

**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID**

**FACULTAD DE MEDICINA**

**Departamento de Patología y Clínica Médica**



**TESIS DOCTORAL**

## **Porfiria experimental inducida por hexaclorobenceno**

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR  
PRESENTADA POR

**Vicente Mas Andrés**

**Madrid, 2015**

Vicente Mas Andrés

TP  
1981  
110



x-53-074431-6

PORFIRIA EXPERIMENTAL INDUCIDA POR HEXACLOROBENCENO

Departamento de Patología y Clínica Médica  
Facultad de Medicina  
Universidad Complutense de Madrid  
1981



BIBLIOTECA

© Vicente Mas Andrés

Edita e imprime la Editorial de la Universidad  
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía  
Noviciado, 3 Madrid-8  
Madrid, 1981

Xerox 9200 XB 480

Depósito Legal: M-13976-1981

PORFIRIA EXPERIMENTAL INDUCIDA POR HEXACILOBENCENO

Tesis para aspirar al grado de Doctor

presentada por:

Vicente Mas Andrés, Licenciado en Medicina y Cirugía

Facultad de Medicina, Universidad Complutense

MADRID 1.980





HOSPITAL CLINICO DE SAN CARLOS  
DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA  
MADRID - 3

D. VICENTE GILSANZ GARCIA, CATEDRATICO DE PATOLOGIA  
Y CLINICA MEDICAS DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA  
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

CERTIFICO que la presente Tesis Doctoral titulada  
" Porfiria experimental por hexaclorobenceno "  
ha sido realizada durante los últimos 3 años por el  
licenciado D. Vicente Mas Andrés en los laboratorios  
de la Cátedra que regento y en el Instituto de Medi-  
cina Experimental del C.S.I.C. que dirijo, bajo mi  
dirección y la del Doctor en Medicina D. Rafael Enrí-  
quez de Salamanca Lorente.

Considero que esta Tesis es adecuada para optar  
al Grado de Doctor.

Madrid 25-noviembre 1980

*Re. Lorente*



-I-

#### AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, he de dar las gracias al Prof. Dr. D. Vicente Gilsanz, Catedrático de Patología Médica de la Facultad de Medicina de la Universidad Complutense de Madrid, así como al Dr. D. Rafael Enríquez de Salamanca Lorente, Jefe Clínico de la misma Cátedra, directores de esta Tesis, - sin cuya eficaz ayuda no hubiera sido posible su realización

Agradezco igualmente su colaboración a los Dres. T. Catalán, M.L. Peña y A. Olmos, ya que juntos hemos constituido un equipo de trabajo eficaz en la realización del trabajo experimental.

Mi sincero agradecimiento a la Dra. J. Fariña del departamento de Anatomía Patológica del Hospital Clínico de San Carlos de Madrid, por su inestimable colaboración en el estudio microscópico de tejidos.

Y por último mi reconocimiento a los Laboratorios Liade, en cuyo Centro de Investigación se ha llevado a cabo el proceso de intoxicación y observación de los animales de experimentación utilizados en el presente trabajo.



INDICE

I. Introducción	
1.1. Datos históricos de las porfirias experimentales ...	1
2. Compuestos aromáticos polihalogenados	
2.1. Hexaclorobenceno .....	5
2.2. Bifenilos policlorados .....	6
2.3. Bifenilos polibromados .....	6
2.4. Clorodibenzodioxinas .....	6
3. Acción de los compuestos aromáticos polihalogenados	
3.1. Mecanismo de acción de la Porfiria hepática causada por compuestos aromáticos polihalogenados .....	7
3.2. Influencia de factores ambientales en el metabolismo de las porfirinas .....	9
3.3. Porfiria causada por Hexaclorobenceno y otros hidro- carburos aromáticos polihalogenados .....	10
3.4. Propiedades y metabolismo de los hidrocarburos aromá- ticos polihalogenados .....	12
3.5. Porfiria por Hexaclorobenceno en la rata	
3.5.1. Características generales .....	13
3.5.2. Porfirinas en orina, heces y tejidos .....	15
3.5.3. Factores que influyen en la acción porfirinogenéti- ca del HCB en las ratas .....	17
3.6. Otros hidrocarburos aromáticos polihalogenados	
3.6.1. Bifenilos polihalogenados .....	18
3.6.2. Porfiria asociada con el manejo de fenoles clora- dos .....	19
3.7. Otros compuestos aromáticos halogenados .....	19
3.8. Efectos sobre las enzimas de la vía biosintética del Hem .....	20
3.8.1. Uroporfirinógeno decarboxilasa .....	22

-III-

3.8.2. Coproporfirinógeno oxidasa .....	24
3.8.3. Efectos de la administración de Hexaclorobenceno y sobrecarga de hierro en las enzimas de la bio- síntesis del Hem y citocromo P <sub>450</sub> en el hígado de rata .....	26
4. Porfirias experimentales como modelo de enfermedades hu- manas .....	27
II. 5. OBJETIVOS .....	30
III. 6. MATERIAL Y METODOS	
6.1. Material experimental .....	31
6.2. Fundamentos físico-químicos de los métodos de se- paración de las porfirinas .....	33
6.2.1. Fluorescencia .....	33
6.2.2. Espectroscopia .....	33
6.2.3. Solubilidad .....	34
6.2.4. Esterificación .....	35
6.2.5. Porfirinas urinarias .....	36
6.2.6. Porfirinas fecales .....	36
6.3. Determinaciones cuantitativas en orina .....	36
6.3.1. Porfobilinógeno .....	36
6.3.2. Porfobilinógeno y ácido delta-aminolevulínico .....	38
6.3.3. Copro y uroporfirina urinarias .....	40
6.4. Porfirinas fecales .....	41
6.5. Métodos de separación fraccionada .....	42
6.5.1. Cromatografía sobre capa fina de los metil és- teres de las porfirinas .....	42
6.6. Método de intoxicación experimental en animal -- por Hexaclorobenceno .....	47
6.7. Métodos estadísticos .....	49
6.7.1. Medidas dentro de un grupo .....	49
6.7.2. Comparación entre los valores medios de dos -- grupos .....	50

IV. 7. RESULTADOS

7.1. Excreción normal de porfirinas en ratas .....	54
7.1.1. Fracciones porfirínicas en heces .....	56
7.1.2. Fracciones porfirínicas urinarias .....	57
7.1.3. Fracciones porfirínicas hepáticas .....	58
7.1.4. Fracciones porfirínicas biliares .....	60
7.1.5. Reparto porcentual de la carboxil porfirinas -- urinarias .....	61
7.1.6. Reparto porcentual de las carboxil porfirinas - fecales .....	62
7.1.7. Reparto porcentual de las carboxil porfirinas biliares .....	63
7.1.8. Relación peso de hígado-peso corporal en ratas normales .....	64
7.1.9. Excreción urinaria de los precursores de las -- porfirinas en ratas normales .....	66
7.2. Excreción de porfirinas en la porfiria experimen- tal inducida por hexaclorobenceno .....	67
7.2.1. Eliminación urinaria y fecal de fracciones por- firínicas .....	69
7.2.2. Eliminación de precursores (ALA y PBG) .....	95
7.2.3. Fracciones porfirínicas hepáticas .....	105
7.2.4. Fraccionamiento mediante cromatografía en capa fina de las porfirinas urinarias .....	112
7.2.5. Fraccionamiento mediante cromatografía en capa fina de las porfirinas fecales .....	135
7.2.6. Fraccionamiento mediante cromatografía en capa fina de las porfirinas hepáticas .....	155

-V-

7.2.7. Estudio cuantitativo mediante cromatografía en capa fina de las porfirinas contenidas en diver <u>sos</u> tejidos .....	163
V. 8. COMENTARIOS .....	174
VI. 9. CONCLUSIONES .....	218
VII. 10. BIBLIOGRAFIA .....	220



## I. INTRODUCCION

---



## 1. INTRODUCCION

Las alteraciones del metabolismo de las porfirinas pueden ser divididas en dos grandes grupos: Porfirias y porfirinurias. En el hombre, la distinción entre los dos tipos está generalmente bien definida. Las porfirias pueden ser consideradas principalmente como anomalías hereditarias del metabolismo porfirínico. Porfirinuria, por el contrario, es secundaria a un número de condiciones que van acompañadas por una excreción urinaria incrementada de Coproporfirina y más raramente Uroporfirina o precursores. Estas enfermedades incluyen ciertos tumores, enfermedades hepáticas, un número de enfermedades hematológicas, intoxicación por metales pesados y otras enfermedades. Una clasificación simplificada de los tipos de Porfiria no humana incluiría animales intactos y sistemas de células aisladas.

### Porfirias experimentales:

#### I. Animal

- a) Genética
- b) Inducida químicamente

#### II. Sistemas de células aisladas

- a) Inducida químicamente

### 1.1. Datos históricos de las Porfirias experimentales

El concepto de inducción química de Porfiria fue introducido por las observaciones clínicas de Stokvis en 1.889 (107), -- cuando describió un paciente que había ingerido Sulfonal que -- presentaba orina roja y murió por disfunción neurológica. - - -



Stokvis produjo la primera Porfiria Experimental por administración de Sulfonal a conejos y perros (103).

Fischer y Duesberg (40), administraron más tarde este compuesto a conejos y encontraron porfirinas éter-insolubles en la orina.

Rimington y Hemmings (35) (36) demostraron que algunas sulfonamidas, incluyen la sulfanilamida incrementaban la excreción de Coproporfirina urinaria en ratas.

La llamada era moderna en la Porfiria experimental fue iniciada por los estudios de Schmid y Schwartz (37) (38), quienes demostraron que la administración de Sedormid a conejos producía una forma de Porfiria Hepática que fue caracterizada por la excreción de cantidades incrementadas de Porfobilinógeno y Uroporfirina III en la orina. El hígado contenía grandes cantidades de Porfobilinógeno, Uro, Copro y Protoporfirinas.

En 1.959 Solomon y Figge (116), describieron una Porfiria experimental en ratones y cobayas causada por Dicarbetoxy-dihidro-Colina (DDC).

El Hexaclorobenceno (HCB) fue usado como fungicida con propósitos agrícolas. La ingestión accidental en Turquía produjo miles de casos de Porfiria Cutánea (9) (10) (12) (25).

Después de los artículos de los casos turcos, De Matteis y cols. (17) y Ockner y Schmid (78), demostraron que este compuesto causa Porfiria en ratas y conejos. En los animales, así como en el humano, el desarrollo de la Porfiria es gradual y ne

cesita la exposición repetida al compuesto para producir la enfermedad. El cuadro general observado en conejos fue, una excreción aumentada de Uroporfirina urinaria con algún aumento en la Coproporfirina urinaria, después de la administración de Hexaclorobenceno durante seis semanas (17)). No hubo aumento en la excreción de los precursores de porfirinas Aminolevulínico (ALA) y Porphobilinógeno (PBG). Las anomalías bioquímicas producidas por este compuesto en el hombre y fuertemente parecidas a las encontradas en la Porfiria cutánea tarda humana. La Porfiria por Hexaclorobenceno en conejos es probablemente el mejor modelo de Porfiria Cutánea Tarda disponible.

La excreción anormal de metabolitos producida por Hexaclorobenceno varía de unas especies a otras.

En las ratas hay un marcado incremento en la excreción de los precursores ALA y PBG por ingestión continua de Hexaclorobenceno (17) (78)). Estos no se excretan aumentados en humanos o conejos intoxicados con este compuesto. En las tres especies se excretan Uro y Coproporfirina aumentadas.

Aunque los intentos iniciales para demostrar la fotosensibilidad en ratas tratadas con Hexaclorobenceno no tuvieron éxito (7) (17)), fue más tarde demostrada por Pearson y Malkinson (31)), por exposición crónica de la piel afeitada a luz ultravioleta de larga longitud de onda produjo lesiones similares a las de la Porfiria Cutánea Tarda humana.

La Porfiria por Hexaclorobenceno es interesante en varios aspectos:

1) La experiencia en los casos turcos de diferentes grupos étnicos prueba que un tipo tóxico de Porfiria Cutánea hepática puede ocurrir y que esta enfermedad no necesita tener siempre un base genética.

2) Aporta un modelo animal para el estudio de la Porfiria Cutánea Tarda.

3) Aporta un punto de partida para la detección de otros compuestos derivados que pueden alterar el metabolismo normal de las porfirinas.

Otro tipo de porfiria experimental fue descrito en 1.963 por Weston-Hurst y Paget (130) y De Matteis y Rimington (13) debido a la griseofulvina en ratones. Cuando se administraba a 2,5% en la dieta, producía primero un aumento de Copro y -- Protoporfirina fecal con un acúmulo considerable de Protoporfirina en el hígado, seguida a los pocos días por la excreción urinaria aumentada de ALA, PBG y Coproporfirina. Aumenta la Protoporfirina eritrocitaria y se observa fluorescencia de las células rojas circulantes y de las células medulares.

La porfiria persistió tanto tiempo como la droga fue administrada. Los hígados se agrandaron evidenciándose Protoporfirina en los conductos biliares. En suma hay una proliferación del conducto biliar, áreas de necrosis hepática, con paro en la metafase y número aumentado de células biliares binucleadas.

Las altas concentraciones de Protoporfirina que se acumula en el hígado en la Porfiria inducida por DDC y griseofulvi

na comparadas con los de la Porfiria por ALA y Hexaclorobenceno no podría ser explicada por los hallazgos de una disminución de la actividad de la ferroquelatasa producida por DDC (79) y griseofulvina (71). Muy recientemente Tephly y cols. (123) -- han descrito el aislamiento de un inhibidor hepático de la actividad de la ferroquelatasa en ratones y ratas tratadas con DDC.

Otro compuesto que fue descubierto en vivo como agente -- porfirinogénico fue el 2-Aliloxi-3-Metilvenzamida, encontrado por observaciones clínicas. Fue estudiado por sus propiedades analgésicas y antipiréticas en un hombre con artritis. Durante el tratamiento se observó un marcado incremento en la excreción de Coproporfirina urinaria (83). Más tarde se administró a -- tres sujetos normales a una dosis de 0,6 g/día y a otros tres a dosis de 2,6 g/día. En ambos grupos hubo un aumento de ALA, PBG, Uro y Coproporfirina urinarias, así como Uro, Copro y Protoporfirina eritrocitarias. Estos hallazgos son demostrables -- en conejos y ratas a los que se administra este compuesto (45) (124).

## 2. COMPUESTOS AROMATICOS POLIHALOGENADOS

### 2.1. Hexaclorobenceno

El hexaclorobenceno empezó a conocerse como la causa de -- un masivo envenenamiento en Turquía debido al consumo de trigo tratado con este fungicida. Durante los años 1.955-1.959 unos 3.000 niños fueron afectados. Además de ampollas y escoriaciones en las manos y cara, pigmentación oscura e hipertrichosis, normalmente estos niños presentaban hígados grandes con fun- -

ción hepática alterada. Su orina rojo oscuro o marrón contenía grandes cantidades de porfirinas. Se produjo un índice de mortalidad del 10% ( 10 ).

## 2.2. Bifenilos policlorados

En 1.968, 15.000 personas en Japón fueron afectadas por ictericia, cloracné y manchas oscuras en la piel (125). Estos síntomas fueron atribuidos al bifenilo policlorado (PCB<sub>8</sub>) contaminante del aceite de arroz.

## 2.3. Bifenilos polibromados

En el verano de 1.973, cientos de libras de una mezcla -- química industrial entró como suministro de un alimento en Michigan. El producto químico fue enviado inadvertidamente a varias millas y añadido a una dieta en vez del Oxido de Magnesio. 10.000 vacas y otros animales domésticos fueron expuestos durante la segunda mitad de 1.973 y principios de 1.974 a altos niveles de bifenilos polibromados (134).

Familias de granjeros también ingirieron cantidades de -- PBB<sub>8</sub>. En un tercio de un grupo de 140 miembros de familias de granjeros expuestos al PBB, se encontró un contenido aumentado de porfirinas de 7, 6 y 5 grupos carboxilos en la orina, concluyéndose que una Coproporfirinuria secundaria y porfiria hepática crónica se había producido (113).

## 2.4. Clorodibenzodioxinas

En 1.976, clorodibenzodioxinas escaparon de una factoría

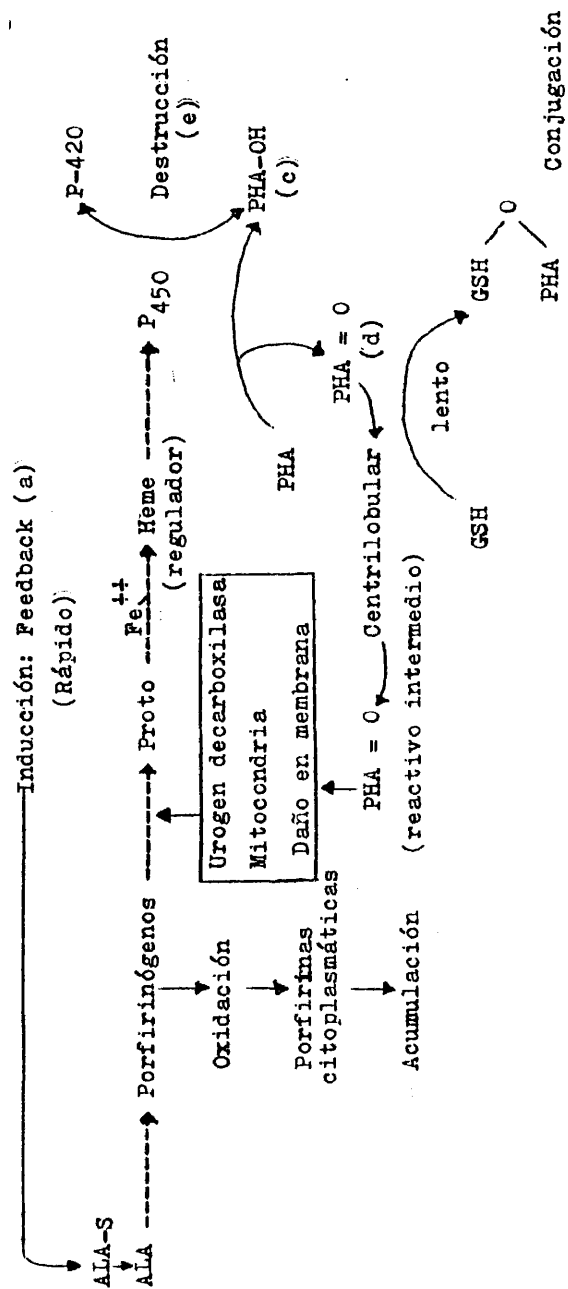
durante una explosión en Seveso (Italia). Medio año más tarde - se dieron algunos casos de acné debido al cloro en la población local. Estas personas tuvieron probablemente también porfiria - en opinión de Strick. Desde Junio a Diciembre de 1.978 ( 46 ) -- guardaron conejos en áreas contaminadas cercanas a Seveso pero sin embargo no detectaron alteraciones en el metabolismo porfirínico ni modificaciones histológicas en riñón o hígado.

### 3. ACCION DE LOS COMPUESTOS AROMATICOS POLIHALOGENADOS

La exposición crónica a compuestos aromáticos polihalogenados causa porfiria y enfermedad hepática en el hombre, rata, conejo, pollo (128) y ratón (111).

De acuerdo con Granick (50 ), algunos compuestos químicos pueden inducir la actividad de la ALA-Sintetasa.

#### 3.1. Mecanismo de acción de la Porfiria Hepática causada por -- compuestos aromáticos polihalogenados

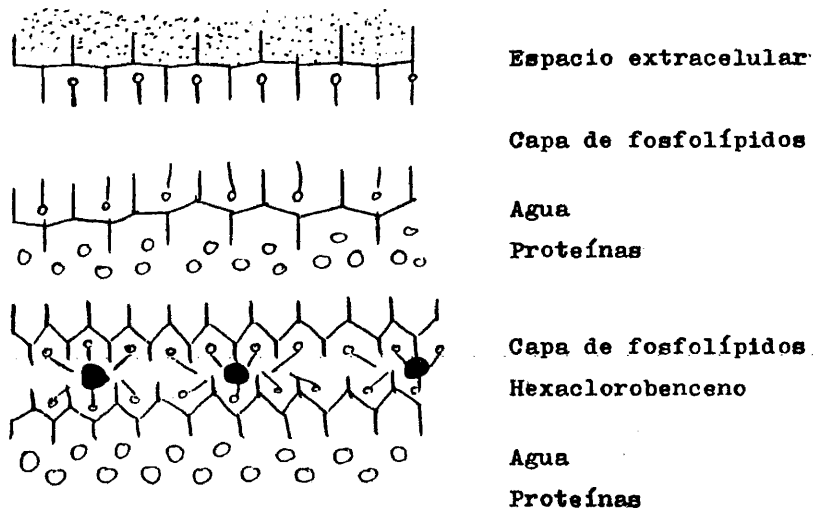


Depleción de GSH (f)

Se sugiere que la acumulación de porfirinas en hígado no es únicamente debido a una actividad aumentada de la ALA sintetasa, sino también a la inducción droga-enzima y la formación de un reactivo intermedio que causa daño centrilobular en el hígado y finalmente porfiria (114).

### 3.2. Influencia de factores ambientales en el metabolismo de las porfirinas.

Diferentes compuestos orgánicos que contienen halógenos contaminan nuestro ambiente. Algunos de estos compuestos contienen átomos de halógeno sólo como sustituyentes, sin embargo los hay de tipo apolar, éstos son especialmente compuestos aromáticos, hexaclorobenceno, bifenilos policlorados y polibromados. Todos estos compuestos se conocen como compuestos de reducida actividad. Sin embargo la estructura lipóide de las células es el mejor punto de ataque de estos compuestos.



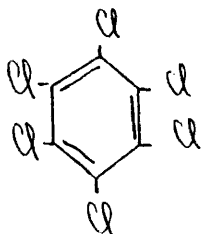
(Desorientación en la estructura lipóide debido a la incorporación del HCB)



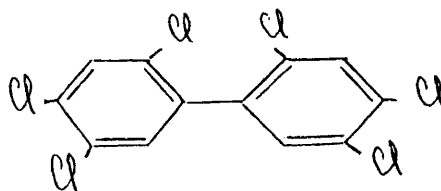
Debido a sus fuertes propiedades lipofílicas, pueden entrar en la membrana, cambiando su organización inicial (103).

### 3.3. Porfiria causada por Hexaclorobenceno y otros hidrocarburos aromáticos polihalogenados.

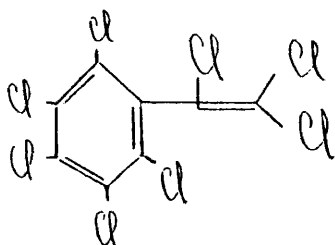
Los hidrocarburos aromáticos polihalogenados que causan una forma específica de porfiria hepática son:



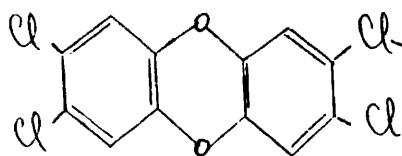
HCB



2,4,5,2',4',5' - Hexaclorobifenil



Octacloroestireno



2,3,7,8 - Tetracolorodibenzo-p-dioxin

La administración prolongada de estos compuestos a mamíferos y aves conduce al desarrollo, después de un período que varía según las especies pero normalmente como mínimo una semana,

de una masiva superproducción de Uroporfirina y Heptacarboxilporfirina y, en menor grado, porfirinas con 6, 5 y 4 grupos -- carboxilos.

El miembro de este grupo de compuestos químicos más ampliamente estudiado como causa de porfiria es el Hexaclorobenceno, que se usa como fungicida y en la obtención de algunos clorofenoles.

Efectivamente en el hombre, el Hexaclorobenceno es una de las causas del síndrome conocido como Porfiria Cutánea Tarda, síndrome en el que lesiones cutáneas debidas a la acción fotosensitiva de las porfirinas están asociadas a un patrón característico en la excreción de porfirinas siendo el hecho más importante una marcada uroporfirinuria con una acumulación masiva de Uroporfirina en el hígado. No se producen ataques abdominales agudos y neuropsiquiátricos y la excreción de Porfobilinógeno es siempre normal.

El tipo de porfiria producida por hidrocarburos aromáticos polihalogenados es de gran interés por varias razones:

1) Su descubrimiento demuestra que la porfiria en el hombre puede ser de origen tóxico.

2) Facilita un modelo experimental para la PCT ya que posee una fuerte semejanza con una enfermedad humana, como más adelante comentaremos.

3) Aclaración del mecanismo por el cual se produce porfiria.

### 3.4. Propiedades y metabolismo de los hidrocarburos aromáticos polihalogenados

Los hidrocarburos aromáticos polihalogenados porfirinógenos tienen importantes efectos tóxicos además de su habilidad para producir porfiria.

El HCB, TCDD y los bifenilos polihalogenados son sólidos blancos, cristalinos, insolubles en agua pero solubles en solventes orgánicos, grasas y aceites vegetales.

#### Hexaclorobenceno

Para producir porfiria el hexaclorobenceno normalmente se administra permitiendo el libre acceso a la dieta standard que contiene HCB cristalino. El HCB cristalino suspendido en agua es pobremente absorbido (60) (62) y es probable que la absorción de cristales mezclados con la dieta sea también pobremente absorbido. Con la alimentación continua de dietas que contienen HCB, la incorporación en los tejidos se ha comprobado que sí ocurre. Sin embargo la absorción más eficaz del HCB de una dosis oral se obtiene administrándolo por sonda gástrica en una solución de aceite vegetal. Por este método se absorbe hasta un 80% de dosis comprendidas entre 20-180 mg/kg de peso (62) (126).

Después de su absorción, el HCB se distribuye en la mayoría de los tejidos corporales en las ratas, pero como la mayoría de los compuestos solubles en la grasa, se almacena principalmente en el tejido adiposo donde la concentración puede -- ser por lo menos diez veces mayor que en el hígado.

El HCB es lentamente eliminado del organismo, principalmente como HCB puro en las heces. Lui y cols. ( 73 ) han identificado en la orina de las ratas tratadas crónicamente con HCB alguno de sus metabolitos tales como el Penta-clorofenol, Penta clorotiofenol, Tetraclorohidroquinona y Tetraclorocatecol.

Koss y cols. ( 62 ) sugieren que el inicio y alcance de la porfiria por Hexaclorobenceno dependen de la biotransformación del tóxico pero no se sabe aún en que eslabón metabólico del -- HCB se forman intermediarios activos.

El metabolito pentaclorofenol, droga de amplio uso industrial provocó en ratas modificaciones en el metabolismo porfirínico similar a las producidas por el HCB, pero unicamente cuando se empleaba el producto técnico y no así el purificado ( 70 ).

La demora en el desarrollo de la porfiria experimental podría achacarse al tiempo requerido para que se alcance una concentración porfirinogenética crítica de un determinado metabolito a nivel hepático.

La posición de los sustituyentes clorados es importante, con las posiciones orto sin sustituir se favorece la transformación de estos compuestos.

### 3.5. Porfiria por Hexaclorobenceno en la rata

#### 3.5.1. Características generales

La respuesta de las ratas a la administración prolongada

de una dieta que contiene 0,5% de HCB muestra una marcada diferencia entre individuos, razas y sexos con respecto a la duración en el desarrollo de porfiria. Una dosis única grande de HCB no causa porfiria (110). El efecto del HCB en la excreción urinaria de porfirinas en ratas hembras raza Wistar puede ser dividida en tres fases. Después de un período de cuatro semanas durante el cual se da un pequeño cambio en la excreción de porfirinas la aparición de la porfiria se indica por un rápido incremento en la excreción de porfirinas es cuando la porfiria llega a estar bien establecida a las diez semanas. Durante la fase final la excreción de porfirinas continúa incrementándose pero de un modo más lento, hasta que los animales mueren. Los cambios en la excreción fecal de porfirinas es paralela a los de la orina. La acción porfirinogénica del HCB en ratas hace que la excreción del 5-Aminolevulínico y especialmente el Porphobilinógeno se vaya incrementando a medida que la porfiria se desarrolla (78) (17). Este aspecto de la porfiria ha sido ignorado, posiblemente porque no se ha visto en el hombre y en otros animales.

Ockner y Schmid (78) encontraron que cuando el HCB es retirado de la dieta la excreción de porfirinas vuelve a valores normales a la semana.

El HCB causa lesiones cutáneas y neurológicas en las ratas (17) (41) sobre todo cuando se administran altas dosis de HCB (0,5-2 %) y pueden aparecer antes de la aparición de porfirinuria. Consisten en cambios en el pelo, que se vuelve descolorido y de baja calidad, y en costras con hemorragia en áreas depiladas, en la espalda, cabeza y patas. Dosis de 0,2-2 % normalmente producen en la muerte de algunos animales an--

tes de que la porfiria se desarrolle. Los animales mueren en los estadios más tempranos de la intoxicación mostrando temblores generalizados, debilidad e inmovilidad progresiva hasta paroxia y muerte. Manifestaciones neurotóxicas similares pero más crónicas se han visto en animales que sobreviven suficiente para que la porfiria se desarrolle. Ratas recién nacidas y muy jóvenes son particularmente susceptibles a los efectos neurotóxicos del HCB (17).

El mecanismo por el que se producen estos efectos neurotóxicos es desconocido. No han sido encontradas lesiones morfológicas en el sistema nervioso central (11).

Aunque ninguno de los efectos tóxicos anteriormente descritos nos proporciona un modelo experimental para las características clínicas de la porfiria humana, las lesiones cutáneas debidas a la acción fotosensibilizante de la porfiria en la piel se han producido en las ratas con porfiria por HCB. Pearson y Malkinson (81) demostraron que la exposición crónica de áreas de ratas afeitadas a la luz ultravioleta de larga longitud de onda desarrollaron el crecimiento del pelo y se producían lesiones de la piel expuesta y bullas epidérmicas idénticas a las de la PCT. Secciones de la piel observadas por microscopia de fluorescencia mostraron que las porfirinas estaban selectivamente concentradas en la epidermis y en el epitelio folicular. No aparecen lesiones cutáneas por la exposición a luz ultravioleta en un tiempo corto (17) (7).

### 3.5.2. Porfirinas en orina, heces y tejidos

La composición de la mezcla de porfirinas excretadas en la

orina en la Porfiria por Hexaclorobenceno en la rata ha sido --  
clasicamente investigada por métodos de extracción solvente - -  
(73 ) (17 ) (102) (120) (121) (103). El cambio más prematuro es  
un ligero incremento en la excreción de Coproporfirina. La fase  
de aparición de la porfiria se marca por un progresivo incremento  
en la excreción de Uroporfirina aunque también continúa incre--  
mentándose la Coproporfirina durante esta fase. Mediante técni--  
cas cromatográficas se aprecia el progresivo incremento de las  
porfirinas más policarboxílicas (92 ) (25 ) (120) (121).

Se incrementa la excreción de porfirinas en las heces. El  
incremento es debido principalmente a porfirinas con 4-8 grupos  
carboxilos. Las heces contienen grandes cantidades de porfiri--  
nas de las series Isocoproporfirina. La concentración de Proto--  
porfirina en la bilis se incrementa unas 5 veces en la Porfiria  
por HCB, según Elder (27 ).

Existe un acuerdo general de que las porfirinas excretadas  
en la orina y en las heces pertenecen a las series isoméricas -  
III.

Cuando la porfiria se desarrolla los precursores del Hem -  
se acumulan progresivamente en el hígado y en menor cantidad en  
el riñón y se incorporan a los huesos, pero no se acumulan ni -  
en la médula ósea ni en las células rojas. El aumento de porfi--  
rinas en el hígado, principalmente Uro y Heptacarboxilporfirina  
con trazas de porfirinas de menor número de carboxilos, es para--  
lela al aumento en la excreción de porfirinas y tiende a nive--  
larse una vez establecida la porfiria.

El PBG se acumula también en el hígado pero en menor canti

dad que la Uroporfirina (84)).

### 3.5.3. Factores que influyen en la acción porfirinogénica del HCB en las ratas

Gran número de factores influyen la respuesta de las ratas de la misma raza al Hexclorobenceno o alteran el curso de la -- porfiria. Las ratas hembras desarrollan porfiria más rápidamente que los machos (90) (51) (108). Se observa esta diferencia aún cuando la cantidad acumulada de HCB en el hígado y otros tejidos es la misma en los dos sexos (51). La resistencia de las ratas macho a la acción porfirinógena del HCB puede ser vencida por la administración de estradiol sólo o en combinación con 17 alfa-hidroxiprogesterona o testosterona (55). En las ratas hembras la respuesta al HCB se disminuye por ovariectomía y se aumenta por altas dosis de estrógenos (93).

Las ratas hembras de la raza Agus tratadas con HCB desarrollan el estado porfírico más rápidamente que las ratas hembras de la raza Porton-Wistar (105).

La administración adicional de Fenilbutazona a ratas crónicamente tratadas con dosis muy bajas de HCB (0,07 %) indujo en estos animales unos episodios agudos bioquímicamente muy similares a las crisis agudas de las porfirias humanas (15).

Las alteraciones en el almacenamiento del hierro en el -- cuerpo se sabe que influyen en el curso de la PCT en el hombre y la posibilidad de que un efecto similar actúe en la porfiria por HCB en las ratas. Kalivas y cols. no pudieron demostrar ningún efecto de la sobrecarga de Hierro sobre los cambios induci-



dos por HCB en la excreción de porfirinas urinarias dando hierro dextrano intraperitoneal al comienzo de la intoxicación -- por HCB o después de la aparición de la porfiria. Más tarde -- Joubert y cols. demostraron que la aparición de la porfiria pudo ser acelerada si las ratas se hacían sideróticas antes de -- la administración del HCB y que las concentraciones de porfirinas en la orina y el hígado alcanzaban entonces niveles más altos que en las ratas control tratadas sólo con HCB.

Recientemente Sweeney y cols. (119) demostraron la indudable influencia del hierro en la porfiria experimental, al ob--servar que el compuesto porfirinogenético 2,3,7,8- Tetracloro--dibenzo-p-dioxina no provocaba porfiria en los animales ferro--pénicos.

La sobrecarga y la deplección de hierro potenciaron y disminuyeron respectivamente el efecto porfirinogenético del HCB ( 5 ).

### 3.6. Otros hidrocarburos aromáticos polihalogenados

#### 3.6.1. Bifenilos polihalogenados

La administración prolongada de bifenilos polihalogenados, mezclados con la dieta o por absorción a través de la piel pro--duce una porfiria en conejos, ratas y aves muy similar a la porfiria por HCB (123).

Goldstein y cols. (47 ) alimentando ratas hembras de raza Sherman con una dieta que contenía Aroclor 1254 durante 13 ~~me--~~ses. Durante este tiempo los animales ganaron peso normalmente,

no hubo lesiones cutáneas ni neurotoxicidad, ni se produjo ninguna muerte. Se presentó una ligera Coproporfirinuria desde la primera semana de la intoxicación pero la porfiria no se desarrolló hasta 2-7 meses. El primero y más llamativo signo de porfiria fue un rápido incremento en la fracción Uroporfirina urinaria que continuó durante 4-6 semanas y que se niveló a un valor 500 veces superior a los controles. Esto fue acompañado por Porfobilinogenuria (50 veces mayor) y más tarde por un menor incremento en la excreción de Coproporfirina (27 veces) y 5-Aminolevulínico (18 veces). La mayor parte de porfirina urinaria demostró ser Uroporfirina (73%) y Heptacarboxil porfirina (16%) por cromatografía en capa fina pero también aumentaron la Copro, Hexa y Pentacarboxil porfirinas. La concentración de porfirinas en el hígado aumentaron progresivamente a medida que la porfiria se desarrollaba. No se observó fluorescencia roja en la médula ósea observada por luz ultravioleta.

### 3.6.1. Porfiria asociada con el manejo de fenoles clorados

Una forma de porfiria, indistinguible de la PCT, ha sido observada asociada con brotes de cloracné entre trabajadores - en dos factorías que producen los herbicidas 2,4-D (2,4-dicloro fenoxiacético) y 2,4,5-T (2,4,5-Tricloro fenoxiacético) y - compuestos derivados ( 2 ) ( 58 ). En ambos brotes la Uroporfirinuria fue más común que la porfiria abierta con lesiones cutáneas.

### 3.7. Otros compuestos aromáticos halogenados

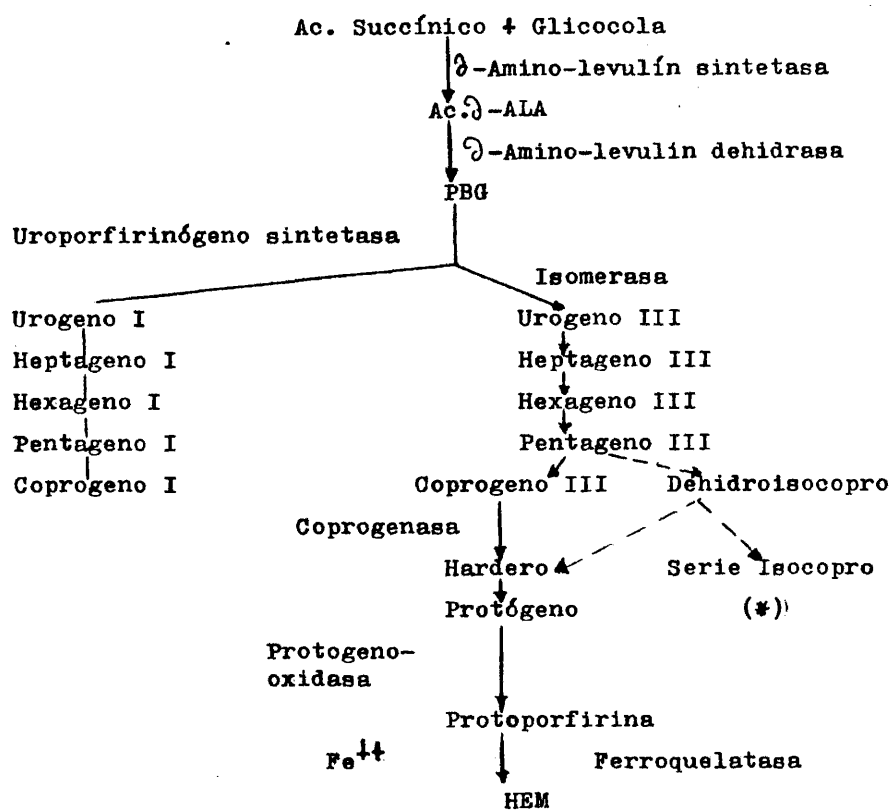
Los compuestos aromáticos descritos pueden ser divididos en dos grupos. En el primer grupo están compuestos tales como

Octacloroestireno, tetraclorodibenzofurano y Hexacloronaftaleno, que presentan muchas de las propiedades de los porfirinógenos descritos. De estos, sólo el Octacloroestireno, ha demostrado ser porfirinógeno causando una porfiria en la rata idéntica a la producida por HCB ( 112 ).

El segundo grupo de compuestos contiene los benzenos de menor número de Cl investigados por Rimington y Ziegler ( 33 ), que producen un rápido aumento en la excreción urinaria de Coproporfirina III. La concentración de Uroporfirina en la orina aunque aumentó de 10-50 veces, nunca excedió más del 10% de la concentración de Coproporfirina. A dosis más altas de produce un aumento tardío en la excreción de los precursores de las porfirinas.

### 3.8. Efectos sobre las enzimas de la vía biosintética del Hem

Esquema de la biosíntesis del Hem



(\*) Vía derivativa de desconocida significación fisiológica, - pero que adquiere gran importancia en la PCT humana y experi-- mental al acumularse Pentágeno III ( 63 ).

La actividad de la enzima limitante de la síntesis del -- Hem, Ala-sintetasa, se incrementa en el hígado de la rata porfírica por HCB (118) (120) ( 34) y en la porfiria causada por bifenilos polihalogenados ( 47) y por TCDD.

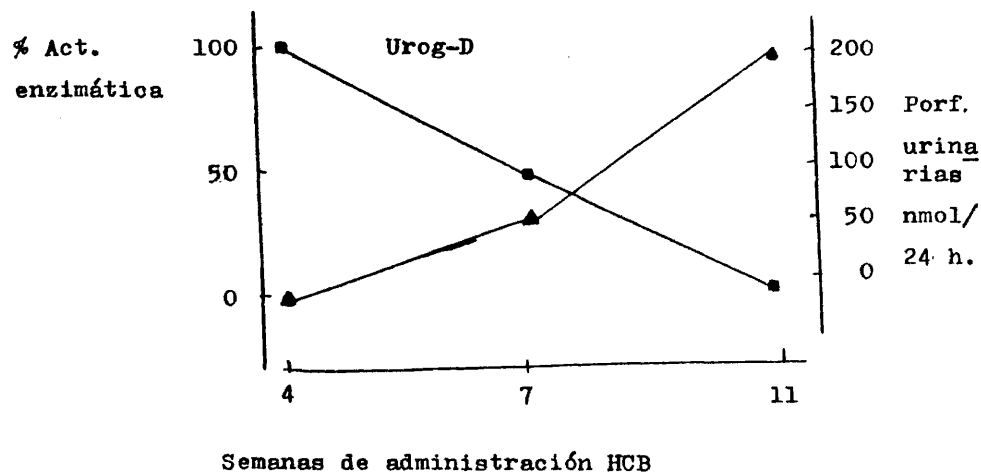
La manifestación de porfiria en las ratas es marcada por dos acontecimientos: un aumento en la excreción y acumulación de porfirinas y un aumento en la actividad de la ALA-sintetasa hepática, pero el hecho patogénico fundamental reside en una - disminución en la actividad del enzima Uroporfirinógeno decarboxilasa.

### 3.8.1. Uroporfirinógeno decarboxilasa

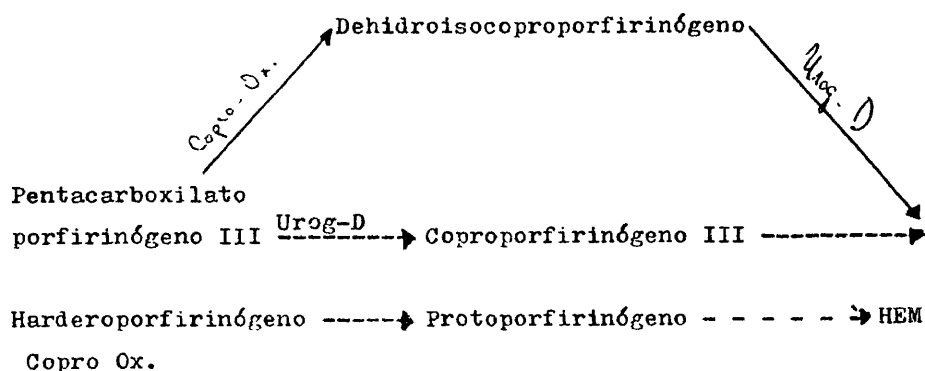
Las primeras medidas de Uroporfirinógeno decarboxilasa en la porfiria por HCB fueron realizadas por Taljaard y cols., -- que encontraron que la enzima era demostrable en los hígados - de ratas con sobrecarga de hierro hechas porfíricas por HCB. - Sin embargo, la actividad de la Uroporfirinógeno decarboxilasa en los hígados de ratas con porfiria por HCB sólo era la misma que en los animales control. Más tarde San Martin de Viale y - cols. demostraron que la actividad de la Uroporfirinógeno de-- carboxilasa estaba disminuida en un 76% usando Uroporfirinógeno III como sustrato y en un 95% empleando porfirinógeno hep-- tacarboxílico, en fracciones de hígado de ratas con porfiria - por HCB sin sobrecarga de hierro. La actividad de la Uroporfi-- rinógeno decarboxilasa era normal en el bazo y eritrocitos de estos animales. San Martin de Viales y cols. excluyeron la po-- sibilidad de que grandes cantidades de porfirina presentes en los extractos hepáticos podían haber inhibido directamente la enzima (120) ( 31 ).

Elder y cols. han seguido los cambios en la actividad de la Uroporfirinógeno decarboxilasa que ocurren durante el curso de la intoxicación por HCB en ratas. Usando pentacarboxilato -- porfirinógeno III como sustrato, demostraron que la actividad -- de la enzima en los homogeneizados de hígado de rata fallaba -- progresivamente a medida que la porfiria se desarrollaba (31)

(30)



La excreción incrementada de porfirinas de las series iso coproporfirina que ocurre en la porfiria por HCB en la rata es una consecuencia directa de la disminución de la Urogen-decarboxilasa.



(23)

### 3.8.2. Coproporfirinógeno oxidasa

El aumento en la excreción de Coproporfirina III, que es un hecho en la porfiria por HCB es a primera vista incompatible con el concepto de que el defecto en la Uroporfirinógeno decarboxilasa produce la superproducción de porfirinas.

Taljaard y cols. han sugerido que la Coproporfirina puede venir de hepatocitos no afectados por el proceso porfírico y esto sería otra manifestación de cambios compensatorios en la biosíntesis del hem en las células no porfíricas. Alternativamente, la acumulación de Coproporfirinógeno III y Coproporfirinuria podría ser una consecuencia directa de la actividad disminuida de la Uroporfirinógeno decarboxilasa. Aunque la actividad de la Coproporfirinógeno oxidasa es normal en la porfiria por HCB, la producción de dehidroisocoproporfirinógeno en esta condición indica que el porfirinógeno pentacarboxílico III está compitiendo con el Coproporfirinógeno III como sustrato de esta enzima. Bajo estas circunstancias, el mantenimiento de la tasa de síntesis del Hem requeriría un aumento en la concentración de coproporfi-

rinógeno y se produciría Coproporfirinuria (121) ( 30 ).

San Martin de Viale y cols. en estudios cuantitativos y cualitativos de las porfirinas y la Porfirinógeno carboxilasa de hígado, bazo, riñón, glándula harderiana y eritrocitos de ratas -- normales y de ratas porfíricas por hexaclorobenceno encontraron que el hexaclorobenceno no tiene efecto sobre el contenido en -- porfirinas en los eritrocitos pero produce una disminución en -- las de la glándula harderiana y un aumento en el hígado, siendo las porfirinas predominantes la Uro y la Heptacarboxílica.

El hexaclorobenceno no tiene efecto en la actividad de la - porfirinógeno-carboxi-liasa de eritrocitos, existiendo una ligera disminución en la actividad enzimática en la glándula harderiana y una disminución muy marcada en la actividad enzimática - en hígado y riñón.

El hígado es el principal lugar de acción del hexaclorobenceno, siguiendo el riñón en orden decreciente de efecto y no siendo afectado el tejido eritropoyético. La marcada disminución en las actividades de la porfirinógeno-carboxi-liasa observada en - hígado y riñón podían explicar la alta acumulación de octo y heptacarboxil porfirinas encontradas en estos tejidos.

Ríos de Molina y cols. ( 95 ) están investigando la probable existencia en el hígado de ratas intoxicadas con HCB de un inhibidor de esta descarboxilasa.



3.83. Efectos de la administración de Hexaclorobenceno y sobrecarga de hierro en las enzimas de la biosíntesis del Hem y citocromo P450 en el hígado de rata.

El efecto del hexaclorobenceno sobre la d-aminolevulinato sintetasa, uroporfirinógeno decarboxilasa y citocromo P450 se estudiaron a varios intervalos de tiempo en ratas sideróticas y no sideróticas.

En el grupo de las no sideróticas la administración del Hexaclorobenceno llevó a una disminución progresiva en la actividad de la uroporfirinógeno decarboxilasa, acompañada por un aumento progresivo en la actividad de la d-aminolevulinato sintetasa. Las concentraciones de P450 estuvieron por encima de lo normal durante pero descendieron hacia el final del experimento

Cambios similares aunque más marcados se encontraron en los animales sideróticos. La caída en la actividad de la uroporfirinógeno decarboxilasa ocurrió antes y fue significativamente mayor en estos animales, mientras que el aumento en la actividad de la d-aminolevulinato sintetasa fue consistentemente mayor. La concentración del citocromo P450 hepático también aumentó aunque en menor cantidad que en las ratas no sideróticas.

La porfiria inducida por hexaclorobenceno parecía ser atribuible a la inhibición o inactivación de la uroporfirinógeno decarboxilasa hepática. La siderosis hepática tiene un efecto de sinergia con el hexaclorobenceno en esta enzima y puede ejercer efectos adicionales promoviendo la regeneración del citocromo P450 (72).

4. PORFIRIAS EXPERIMENTALES COMO MODELO DE ENFERMEDADES HUMANAS.

Las porfirias hepáticas experimentales se parecen a las humanas en tres aspectos fundamentales:

1) Las situaciones humana y experimental se caracterizan por una auténtica superproducción de las porfirinas y sus precursores en el hígado.

2) Existe un patrón característico de excreción de las porfirinas y de sus precursores para cada variedad y se pueden reconocer semejanzas en el cuadro bioquímico entre los diferentes tipos de porfirias experimentales y los distintos tipos de porfirias humanas. En particular 3,5-dietoxicarbonil-1,4-dihidrococina (DDC) produce un cuadro bioquímico similar a la porfiria variegata humana y el Hexaclorobenceno (HCB) induce porfiria fuertemente similar a la porfiria cutánea tarda humana.

3) Se puede reproducir experimentalmente la exacerbación por drogas lípido-solubles de la porfiria aguda humana y la potenciación por sobrecarga de hierro de la porfiria crónica humana.

El DDC es aparentemente capaz de reproducir en el hígado de la rata normal un defecto que está presente en la porfiria humana como consecuencia de un defecto genético de porfiria aguda.

En el animal experimental, la sobrecarga de hierro acelera el desarrollo de la Porfiria causada por HCB. La porfiria --

inducida por HCB sirve como un buen modelo de Porfiria Cutánea tarda no sólo por su cuadro bioquímico sino por su sensibilidad a la administración de hierro exógeno.

Las porfirias hepáticas humanas y experimentales se debe considerar como alteraciones en la regulación de la biosíntesis del hem en el hígado. Un paso decisivo en la comprensión de las anomalías bioquímicas ha sido la apreciación de la importancia de la primera enzima de la vía en la regulación de la síntesis de porfirinas y el hem. La actividad de esta enzima d-aminolevulinato sintetasa (ALA-S) está marcadamente aumentada en el hígado de la mayoría de las porfirias hepáticas humana y experimental, con la posible excepción de la PCT humana y P-HCB experimental donde los incrementos son relativamente menores.

La actividad de la ALA-S es regulada por el hem a través de un control feed-back negativo. Hay varias posibilidades por las que un defecto bioquímico o genético pueda interferir con el control feedback del hem y produzca una estimulación de la ALA-S. La inhibición de la síntesis del hem en uno de los pasos en la cadena biosintética puede conducir a una mayor acumulación de porfirinas y de sus precursores.

La administración de DDC o griseofulvina y drogas derivadas produce una acumulación de Protoporfirina que puede ser debida a una inhibición de la ferroquelatasa.

En la porfiria hepática crónica inducida por HCB, la acumulación de uroporfirina es debida a la inhibición de la Uroporfirinógeno decarboxilasa.

La anomalía presente en porfirias hepáticas se debe a un bloqueo parcial en la biosíntesis del hem en diferentes posiciones a lo largo de la vía biosintética, determinado por un defecto genético o por la acción de algún producto químico -- como DDC o HCB.

## II. OBJECTIVES

#### 5. OBJETIVOS

La porfiria experimental inducida por HCB se ha constituido en un valioso modelo de la Porfiria Cutánea Tarda humana, debido a sus características comunes que a su vez las diferencian de las restantes variedades de porfiria humana y experimental.

Sin embargo la porfiria experimental inducida en ratas - por Hexaclorobenceno muestra algunas diferencias con respecto a la Porfiria Cutánea Tarda humana, sobre todo en lo referente a la composición isométrica de la Uro, Copro y Pentacarboxil porfirinas (92). Y en el marcado incremento de la excreción urinaria de precursores observable en los animales (52) y no así en los hombres.

Aunque la porfiria inducida por Hexaclorobenceno en el conejo se asemeja más a la PCT humana (17) la mayoría de los autores eligen a la rata por su mayor manejabilidad y su menor costo.

Nuestro objetivo básico ha sido pues, el estudio de la porfiria experimental como modelo aceptado de la Porfiria Cutánea tarda humana.

Nuestras primeras experiencias fueron dirigidas al estudio del método más idóneo para conseguir la situación porfírica. En una segunda fase nos dedicamos con especial atención al análisis de la excreción porfirínica seriada durante el curso de la intoxicación.

### III. MATERIAL Y METODOS

## 6. MATERIAL Y METODOS

### 6.1. MATERIAL EXPERIMENTAL

Hemos examinado la excreción porfirínica en una muestra - lo más homogénea posible de 19 ratas hembra, raza Wistar, de - peso comprendido entre 300 y 500 gr., escogidas al azar entre un conjunto amplio de población de la misma especie. Hicimos - determinaciones de porfirinas en orina, heces e hígado, extraí- do tras sacrificar al animal, mediante el método de extracción solvente y solamente analizamos la eliminación biliar en diez ratas obtenida mediante canulación del colédoco, durante un pe- ríodo de siete horas. El reparto cualitativo de las distintas fracciones de porfirinas presentes en orina y heces, fue estu- diado en 10 ratas mediante el método de separación fraccionada por Cromatografía en Capa Fina, y en 11 casos fue analizado -- por el mismo procedimiento el contenido biliar.

Otro aspecto al que dedicamos gran interés fue el de pro- ducir el cuadro bioquímico de la PCT humana en el animal de la boratorio, mediante la intoxicación por Hexaclorobenceno (HCB). Un total de 73 ratas de ambos sexos, raza Wistar, fueron dis- tribuidas en siete lotes distintos según la pauta de adminis- tración del HCB que empleábamos. La serie I constaba de 22 ra- tas, de las cuales sólo llegaron a ser analizadas 14, por muer- te prematura del resto, a las que se administró el tóxico mez- clado con la dieta, aproximadamente a unas 3 partes por cada - mil. La serie II, incluía 5 ratas, que recibieron el HCB direc- tamente por sonda gástrica en suspensión de suero-goma, a una dosis de 50 mg/kg. de peso y día, junto a inyecciones intrape-



ritoneales de hierro-dextrano (INFERON) 10 mg., tres veces --, por semana, durante dos meses. La serie III constaba de 10 ratas, que recibieron el HCB directamente por sonda gástrica en suspensión de aceite de oliva, a dosis crecientes de 500-1.500 mg/Kg. de peso y día, junto a inyecciones intraperitoneales - de hierro-dextrano, 10 mg., tres veces por semana. Las series IV y V incluían 5 y 10 ratas respectivamente a las que se -- les produjo la intoxicación la intoxicación por el mismo méto do que a la serie III, variando unicamente las dosis de HCB, que fueron de 100 mg/Kg y día y 50 mg/Kg y día respectivamen te. Las series VI y VII recibieron la dosis de 50 mg/Kg y día por sonda gástrica en suspensión de aceite de oliva, habiendo seles hecho previamente sideróticas, mediante la administra-- ción de hierro-dextrano, durante 15 día previos a la adminis tración del HCB. La diferencia entre ambas series estriba en los tiempos en los que se realizó los análisis de orina y he ces durante el período de intoxicación.

En estas siete series de ratas hicimos determinaciones - de porfirinas en orina, heces, hígado, mediante el método de extracción solvente. El reparto cualitativo de las distintas fracciones de porfirinas presentes en orina, heces, hígado y bilis, fue estudiado mediante el método de separación fraccio nada por Cromatografía en capa fina (TLC).

## 6.2. FUNDAMENTOS FISICO-QUIMICOS DE LOS METODOS DE SEPARACION DE LAS PORFIRINAS

Los métodos de determinación de las porfirinas se basan - fundamentalmente en sus propiedades físico-químicas: solubili-  
dad, espectro de absorción, fluorescencia, esterificación e -  
hidrólisis de los ésteres.

### 6.2.1. Fluorescencia

Las porfirinas en solución de ácidos minerales o solven-  
tes orgánicos emiten una fluorescencia roja intensa y caracte-  
rística que se utiliza ampliamente en la demostración de pe-  
queñas cantidades de estas sustancias y permite su valoración  
aunque exige para ello una purificación adecuada ya que las -  
impurezas o turbideces interfieren esta propiedad. El espec-  
tro de fluorescencia de las porfirinas libres es idéntico al  
de sus ésteres para un mismo solvente, pero difiere según la  
naturaleza de éstos, pudiéndose considerar tres grupos:

- a) Solventes orgánicos y soluciones alcalinas.
- b) Soluciones ácidas fuertes
- c) Complejos metálicos.

### 6.2.2. Espectroscopia

Otra propiedad común a todas las porfirinas es la existen-  
cia de un característico espectro de absorción de la luz vi-  
sible y de la ultravioleta, secundaria a la disposición de do-  
bles enlaces del anillo tetrapirrónico (resonancia). Esta pro-  
piedad es muy importante para la identificación y determina--

ción de las distintas porfirinas ya que cada una de ellas presenta un tipo característico de espectro de absorción. La conversión de las porfirinas libres en sus ésteres no produce -- cambios apreciables en el espectro de absorción lumínica. Todas las porfirinas tienen una intensa banda de absorción a -- una longitud de onda aproximada de 400 mμ: Banda de Soret. -- (135) ( 6 ) ( 39 ).

### 6.2.3. Solubilidad

Las porfirinas naturales presentan grupos COOH (ácidos) en sus cadenas laterales, y átomos N (básicos) en los vértices de los anillos pirrólicos lo que les confiere propiedades anfotéricas y solubilidad en soluciones acuosas tanto ácidas como alcalinas.

Los ésteres de las porfirinas y sus metal-quelatos son -- mucho más solubles en disolventes orgánicos, cloroformo, tetracloruro de carbono, benceno, piridina, dioxano, etc., que las porfirinas libres. Estas en estado sólido no se disuelven fácilmente con éter o acetato de etilo y en cambio en solución ácida son solubles en estos solvente. De aquí la utilidad de la mezcla acetato de etilo-ácido acético o de éter-acético para la extracción de las porfirinas, o acetona-ClH, o -- de ácido oxálico-metanol.

La hidrosolubilidad de las porfirinas depende directamente del nº de grupos COOH libres presentes en las cadenas laterales de sus moléculas. Así la Uroporfirina (octocarboxílica) es muy hidrosoluble siendo prácticamente insoluble en éter.

Los porfirinógenos (incoloros) son convertidos en sus correspondientes porfirinas (fluorescentes) por oxidación. Esta se puede conseguir mediante Iodo, oxígeno o luz así como con agua oxigenada, pero la excesiva oxidación con agua oxigenada puede dar lugar a destrucción de las porfirinas.

#### 6.2.4. Esterificación

La formación de metil-ésteres de las porfirinas es sencilla. Antiguamente se utilizaban soluciones de metanol saturado con gas HCl, pero en la actualidad se prefieren las soluciones de metanol-ácido sulfúrico, diazometano, o trifluoruro de boro. Pueden utilizarse soluciones de metanol-ácido sulfúrico en relación de volumen 95:5, 99:1 o 90:10, que difieren en la distinta velocidad de formación de ésteres. Esta es completa al cabo de 24 horas a temperatura ambiente en la oscuridad incluso para la URO, tras 8 horas a 20° C, o después de 20 minutos a 35° C. 100 ml. de esta solución es suficiente para esterificar varios mg. de porfirinas. La presencia de agua altera el proceso originando esterificaciones imparciales, y debe ser por tanto evitada una concentración acuosa superior al 5-10%.

Los ésteres de las porfirinas en solución metanol-sulfúrico pasan al cloroformo tras su agitación con una cantidad suficiente de agua necesaria para la separación de las fases. La fase clorofórmica debe ser neutralizada con soluciones de NaOH al 2% p de NH<sub>4</sub>OH al 5%, o de CO<sub>3</sub>Na<sub>2</sub> 2 N, para evitar una acidez excesiva que pudiera hidrolizar parcialmente los ésteres. El cloroformo debe también ser lavado con agua puesto que la alcalinidad también puede saponificar los ésteres (132)

(39)

#### 6.2.5. Porfirinas urinarias

El test de screening para las porfirinas urinarias se basa en la característica propiedad de éstas de fluorecer bajo la luz ultravioleta.

Se mezclan 5-10 ml. de orina con una mezcla formada por éter-ácido acético glacial-alcohol amílico en proporción - - 1:1:1. Tras agitar y dejar reposar se separaran dos fases pudiéndose detectar fluorescencia roja en la fase superior con una tonalidad más o menos intensa según la cantidad de porfirinas presentes. De esta forma se extraen tanto la Uro como la Coproporfirina por lo que este test no diferencia porfirinurias de porfirinurias secundarias.

#### 6.2.6. Porfirinas fecales

Una pequeña muestra de heces (0,5-1 gr) se coloca en el fondo de un tubo de ensayo que contiene unos 3 ml. de la citada mezcla de éter-ácido acético glacial-alcohol amílico, y tras homogeneizar y centrifugar se observa a la luz uv. la presencia de fluorescencia rojo-rosa.

### 6.3. DETERMINACIONES CUANTITATIVAS EN ORINA

#### 6.3.1. Porfobilinógeno

Riminton (37), propuso un método simple basado en la lec

tura de la extinción óptica del compuesto rojizo formado por la condensación del PBG con el reactivo de Ehrlich. Desde entonces se ha generalizado su uso. Soluciones requeridas:

a) Reactivo de Ehrlich cuantitativo: 5 gr. de p-dimetilaminobenzaldehído disuelto en 125 ml. de HCl concentrado y -- llevados hasta 250 ml. con agua.

b) Mezcla ácida para la decoloración: 100 ml. de HCl concentrado llevados hasta 200 ml. con agua destilada.

La orina recién emitida se diluye con agua destilada hasta reducir su contenido en PBG en unos 5 g por ml. (estimación visual del test cualitativo). En dos tubos de ensayo se colocan dos muestras de 2 ml. de orina diluida y a una de -- ellas se añaden 2 ml. de la solución (b). Mezclar y trasladar célula "blanca" del espectrofotómetro. Al otro tubo con la segunda muestra se añaden 2 ml. del reactivo de Ehrlich (a). -- Mezclar y trasladar a la célula problema del espectrofotómetro y comenzar las lecturas a 552 m a partir de medio minuto hasta pasar al máximo (alrededor de 2 minutos).

Cálculo:

D. máx. x V = mg de PBG hidratado por ml. de orina

70,85

D. máx. = máxima densidad óptica registrada

V = factor de dilución =  $\frac{2}{\text{cantidad de orina en 2 ml.}}$

### 6.3.2. Porfobilinógeno y ácido delta aminolevulínico

Casi todos los métodos para la determinación del ALA se basan en la condensación de éste con una  $\alpha$ -dicetona (acetil-acetona) y el pirrol formado se hace reaccionar, como el PBG con el reactivo de Ehrlich resultando un compuesto coloreado con un máximo de absorción a 553 m. El ALA es absorbido selectivamente por la resina de intercambio iónico tipo Dowex 50 x 8, y el PBG por la resina tipo Dowex 2 x 8. El método - fue originariamente descrito por Mauzerall y Granick en 1.96 (74), existiendo múltiples variantes y modificaciones.

El PBG es una sustancia lábil por lo que conviene que la muestra de orina a analizar sea reciente. En su defecto - la orina se debe guardar a 4° C después de haber ajustado el pH entre 7 y 8. El ALA se conserva mejor y permanece inalterable en orina conservada a 4° C con un pH ácido entre 4 y 6 durante unos 20 días.

En primer lugar se lava la columna Dowex 2 x 8 y la Dowex 50 x 8 con 10 ml. y 25 ml. respectivamente de agua destilada, lavar el pH de la orina entre 4 y 7. Introducir 1 ml. de orina en la columna Dowex 2 x 8 y dejar fluir lentamente recogiendo el líquido en tubo A, al igual que las aguas de - dos lavados con 2 ml. de agua. El contenido del tubo A servirá para la dosificación del ALA en la columna Dowex 50 x 8, en donde se deja fluir lentamente, después se lava la columna con 30 ml. de agua para eliminar la urea que da coloración - con el reactivo de Ehrlich y posteriormente se hace pasar 3 ml. de una solución de acetato sódico 0,5 M. El PBG se eluye

por tres pases sucesivos de 3 ml. de ácido acético 0,2 N y - se recoge en un tubo graduado (tubo B) que se completa con - agua destilada hasta alcanzar un volumen de 10 ml. A dos ml. de esta solución se le agregan 2 ml. de reactivo de Ehrlich I (2% en HCl 6 N), se agita y se lee a los 5 minutos en 553 m frente a un blanco que contiene un volumen igual de agua destilada y reactivo de Ehrlich I. Para cubetas de un espe-- sor de 1 cm. los cálculos son:

Extinción en 553 x 12,6 = mg. de PBG/100 ml. de orina

En la columna Dowex 50 x 8 que contiene el ALA éste es - eluido mediante extracciones sucesivas con acetato sódico 0,5 M hasta un total de 7 ml. que se recogen en un tubo graduado a 10 ml. en el que se añaden 0,2 ml. de acetil-acetona y se - lleva a un volumen de 10 ml. con tampón acetato pH 4,6 (57 ml de acético glacial y 136 gr. de acetato sódico que se diluyen con agua hasta 1.000 ml.)). Se calienta al baño maría durante 10 minutos (tubo tapado) y se deja enfriar. 2 ml. de esta so- lución se mezclan con 2 ml. de reactivo de Ehrlich II (1 gr. de p-dimetilaminobenzaldehído disueltos en 30 ml. de ácido -- acético glacial, 8 ml. de ácido perclórico al 70% y completar con ácido acético glacial hasta 50 ml.) recientemente prepara- do. Agitar vigorosamente y leer en 553 m al cabo de 15 minu- tos frente a un blanco preparado con 10 ml. de acetato sódico 0,5 M tratado como el problema (52 ) ( 53 ) ( 14 ).

Cálculos:

Extinción en 553 x 4,74 = mg. de ALA/100 ml. de orina



### 6.3.3. Copro y Uroporfirina urinarias

Hemos empleado el método de Gajdos y Gajdos-Torók (43)

50 ml. de orina se mezclan con 5 ml. de ácido acético - glacial y 100 ml. de éter, y se agitan en un embudo de decantación. La COPRO pasa al éter que es lavado dos veces con -- 10 ml. de acetato sódico al 3%. La primitiva fase acuosa y -- estas aguas de lavado de acetato se reúnen para la determinación de URO, (fracción B). Del éter se extrae la COPRO con -- HCl al 5% en sucesivas extracciones y se ajusta el pH de estas fracciones clorhídricas a pH 4 con acetato sódico cristalizado, volviendo a pasar la COPRO al éter (100 ml), comprobándose este paso mediante el examen de la fluorescencia bajo luz uv. Lavar el éter con una solución de Iodo (1/10.000) para convertir el Coproporfirinógeno en Coproporfirina y posteriormente lavar con acetato sódico al 3%. Extraer la COPRO con varias porciones de HCl al 5% y leer en el espectrofotómetro en 380, 430 y 402 m .

Cálculos:

$$2 D_{402} - (D_{380} + D_{430}) \times 0,817 \times \text{volumen final en ml} \times 2 \times 10 = \text{microgramos de COPRO por 1.000 ml.}$$

La fracción denominada B, se ajusta a pH 4 con acetato sódico cristalizado y la solución se vierte en un embudo de decantación en el que se añade el doble de su volumen de una solución de acetato de etilo-ácido acético glacial en proporción 3:1, que capta la URO existente. Después de un rápido -

lavado con agua destilada, extraer la URO con pequeñas fracciones de HCl al 5% hasta desaparición completa de la fluorescencia. Leer en 380, 430 y 405 m frente a un blanco de HCl al 5%.

Cálculos:

$2 D_{405} - (D_{380} + D_{430}) \times 0,831 \times \text{volumen final} \times 2 \times 10 = \text{microgramos de URO por 1.000 ml.}$

También puede obtenerse la URO a partir de esta denominada fracción B mediante la metodología de Rimington (87): Dicha fracción es llevada a pH 1,5 con HCl, se extrae dos veces seguidas con la mitad de su volumen con ciclohexanona, permitiendo una clara separación de las fases. A los combinados extractos de ciclohexanona se añade un volumen doble de éter, agitando. La URO es extraída agitando con pequeñas fracciones de HCl al 5% hasta desaparición de la fluorescencia. Filtrar o centrifugar, y leer en el espectrofotómetro (23).

#### 6.4. PORFIRINAS FECALES

Hemos utilizado el método de Holti, Rimington (54). Dicho método está basado en la extracción mediante éter acidificado de las porfirinas éter-solubles (COPRO y PROTO). Es sencillo, rápido, pero inexacto, pues aparte de no estimar la URO (éter insoluble) las fracciones obtenidas y denominadas COPRO y PROTO son en realidad mezcla de diversas porfirinas con distintos grupos de radicales carboxílicos.

Se toman 0,5 gr. de heces y se homogeneizan con fracciones de éter acidificado con ácido acético glacial (en proporción 10:1), centrifugándose y decantando el éter en un embudo de decantación. Lavar el éter con acetato sódico al 3%, - solución de Iodo y agua y extraer la COPRO con pequeñas y sucesivas cantidades de HCl 0,1 N hasta desaparición de la fluorescencia. La PROTO se extrae con HCl al 5%. Las clorofilas permanecen en la fase etérea debido a su mucho más alto  $n_D^{20}$  - HCl.

Cálculos:

$2 D_{402} - (D_{380} + D_{430}) \times \text{volumen final} \times 0,817 \times 2 = \text{g de COPRO/gr. de heces frescas.}$

$2 D_{409} - (D_{380} + D_{430}) \times \text{volumen final} \times 1,222 \times 2 = \text{g de PROTO/gr. de heces frescas.}$

Debido al distinto grado de hidratación de las heces es usual la expresión de los resultados en g de porfirinas por gr. de heces desecadas, para lo cual una muestra de las heces se lleva a estufa a 100° C hasta peso constante para averiguar el factor multiplicador.

#### 6.5. MÉTODOS DE SEPARACIÓN FRACCIONADA

##### 6.5.1. Cromatografía sobre capa fina de los metil-ésteres de las porfirinas

### Esterificación

Las porfirinas urinarias fueron absorbidas en talco -- (5-10 gr. por cada 100 ml.) tras ajustar el pH de la orina a 3-4 mediante ácido acético glacial. Después de filtrar y secar el talco en estufa a 3\_2 C y en oscuridad, este talco desecado se trará con metanol-sulfúrico (95:5 vol./vol.) durante al menos 24 horas para convertir las porfirinas libres en sus metil-ésteres. La bilis debe ser previamente diluida para evitar la formación de emulsiones con agua acidificada o con un volumen igual de una solución de sulfato amónico saturado, tras lo cual el talco absorberá igualmente las porfirinas. Las muestras de tejido hepático, los hematíes y las heces pueden ser directamente tratadas con metanol-sulfúrico para la esterificación (116).

### Extracción

Después de centrifugar, el metanol-sulfúrico es llevado a un embudo de decantación en el que se añade cloroformo (10-20 ml.), agua destilada (100-150 ml.) y cantidad suficiente de una solución al 5% de amoníaco para llevar el pH por encima de 4, evitando así la hidrólisis parcial por una acidez excesiva. Tras agitación el cloroformo captará o extraerá -- los metil-ésteres de las porfirinas y después de un lavado con agua destilada se filtra a través de sulfato sódico anhidro. Mediante examen de estos extractos clorofórmicos a la luz uv. se podrá apreciar de forma aproximada la cantidad de porfirinas presentes para decidir sobre la necesidad o no de concentrar dichos extractos mediante rotavapor a vacío.

Los residuos secos de los extractos clorofórmicos pueden ser guardados y almacenados en oscuridad sin perder actividad durante al menos un año (133).

#### Cromatografía

Los extractos clorofórmicos son aplicados mediante microjeringas Hamilton a placas de silica-gel (20 x 20 cm.) -- sin indicador de fluorescencia, de espesor 0,25 mm., sobre soporte de cristal o aluminio (Merck), que pueden ser previamente activadas mediante calentamiento a 80-100° C durante 30-60 minutos. La aplicación puede realizarse en forma de -- bandas longitudinales de 1-2 mm. de ancho por 2-4 cm. de largo, o en forma puntiforme si se pretenden cromatogramas cuantitativos.

Las placas se someten a un corto recorrido en cloroformo-metanol (130:20 Vol./vol.) hasta que las bandas hayan ascendido de 1 a 2 cm y formen un nuevo frente más estrecho y purificado. Secar mediante aire caliente. En ocasiones puede ser útil un recorrido previo de la placa en un solvente formado por éter de petróleo-dietileter (4:1 vol./ vol.) con el cual los ésteres del colesterol, triglicéridos y los metilésteres de los ácidos grasos emigran en el frente del recorrido separándose perfectamente de las porfirinas.

Se emplean los siguientes solventes para el desarrollo de los cromatogramas:

A) Inicialmente utilizamos la mezcla solvente indicada por Doss (21): formada por: Benceno-acetato de etilo-metanol (85:13,5:1.5), aunque el incremento en el porcentaje de metanol permite una mejor separación de la uroporfirina de la línea base. Se realiza un recorrido de unos 16 cm. tras lo cual la placa es secada bajo corriente de aire caliente. El examen bajo la luz uv. nos mostrará si se ha obtenido una buena separación de las diversas porfirinas, pudiendo ser aconsejable un segundo recorrido en el mismo solvente.

B) Posteriormente hemos empleado el sistema solvente sugerido por Sears y cols. (101) que consiste en: tetracloruro de carbono-diclorometano-acetato de etilo-propionato de etilo (2:2:1:1). Dicho sistema es una modificación del de Elder (24) que usa propionato de metilo en vez de propionato de etilo. El solvente de Sears posee la gran ventaja de conseguir la separación con un sólo recorrido de la coproporfirina de las isocoproporfirinas, lo cual conseguía Elder, solamente mediante cromatografía bidimensional (24).

La detección de porfirinas bajo la luz uv. puede ser intensificada impregnando los cromatogramas con un spray a base de iso-octano, éter de petróleo o benceno, también volviendo a correr las placas en un nuevo solvente formado por cloroformo-keroseno (7:3 vol./vol.), como recientemente ha sido comunicado por Enríquez de Salamanca, Day y Eales (34)

Grandes variaciones existen en la intensidad de la fluorescencia ante iguales cantidades de uro, copro y protoporfirina. La copro produce siempre tras su scanning un área ma-

yor que iguales cantidades de Uro y Protoporfirina, por lo -- que tomando a esta porfirina como patrón se han de calcular -- empíricamente unos factores correctores para la comparación -- de áreas. Enríquez de Salamanca, Day y Eales calcularon los -- siguientes factores:

Uroporfirina = 1,59

Protoporfirina = 3,39

Coproporfirina = 1

para cantidades de porfirinas superiores a 0,05 g, obteniéndose los factores para las otras carboxil-porfirinas por extrapolación.

Nosotros usamos un Scanner-Fluorímetro marca Camag, modelo T, provisto de un fotomultiplicador sensible al rojo HTV - R-136, filtro primario y filtro secundario. La apertura del diafragma en el filtro primario usualmente es de 30 x y en el secundario de 0,3 a 1,5 cm. La velocidad de scanner es de 1 a 2 cm/min.. El scanner está conectado a un registrador gráfico W + W 1.100 cuya velocidad de registro solemos hacer oscilar entre 2 y 4 cm/minuto. La amplitud de las áreas registradas -- puede regularse mediante mando expansor de escala (1, 2, 5, -- 10, 50 mv).

Para la obtención de fotografías disponemos de una Polaroid, pero obtenemos mejores resultados iconográficos mediante el uso de una cámara fotográfica marca Zenith EM, objetivo Helios 44 M 2/58, film 15 DIN, diafragma 5,6, filtro Asahi -- pentax L-39 (UV), tiempo de exposición 30-60 segundos, ilumi-

nando con dos fuentes de luz uv.

#### 6.6. METODO DE INTOXICACION EXPERIMENTAL EN ANIMAL POR HEXA- CLOROBENCENO

Hemos considerado siete lotes distintos de ratas. El -- primero, ratas serie I, comprendía 22 ratas Wistar de sexo - hembra, a las que se les administró HCB mezclado con la dieta (0,3%, aproximadamente) durante 4 meses. Ocho ratas murie- ros con un cuadro cutáneo y neurológico de intoxicación cró- nica antes de que se comenzara el estudio propiamente dicho.

El segundo lote de ratas, serie II, abarcaba seis ratas hembras, comparativamente semejantes con las anteriores, a - las que les fue administrado el HCB por sonda gástrica en -- suspensión de suero-goma, diariamente, a dosis de 50 mg/Kg - de peso/día, junto a inyecciones de hierro intraperitoneal, tres veces por semana. La duración de la experiencia fue de cinco semanas y en el transcurso de ésta no se produjo ningun - na baja en los animales experimentales pudiéndose realizar - el estudio de todo el lote.

El tercer lote de ratas, serie III, se componía de 10 - ratas, cinco machos y cinco hembras, a las que se les admi- nistraron dosis masivas de HCB desde 500 a 1.500 mg/Kg de pe - so/día, por sonda gástrica, en suspensión de aceite de oliva y con inyecciones intraperitoneales de Hierro-dextrano, tres veces por semana. La intoxicación se obtuvo aproximadamente a los 18 días del tratamiento. El número de muertes que se - produjo en este lote fue de cuatro animales, antes de haber conseguido una intoxicación plena.



El cuarto lote, serie IV, fue de 5 ratas, hembras, a las que se les administró el HCB por sonda gástrica, a razón de una dosis fija de 100 mg/Kg de peso/día, en suspensión de aceite de oliva e inyecciones de Hierro-dextrano en días alternos. Los estudios de porfirinas se hicieron a las tres y a las cinco semanas de intoxicación, con el fin de conseguir una curva de toxicidad lo más completa posible.

El quinto lote, serie V, constaba de 10 ratas, cinco machos y cinco hembras, a las cuales se les administró una dosis fija de HCB, de 50 mg/Kg de peso/día, e inyecciones de Hierro-dextrano, tres veces por semana, la intoxicación completa se obtuvo a los tres meses del tratamiento. El número de bajas que se produjo en esta serie fue de dos, aunque no se debieron a la intoxicación de un modo directo, sino que fueron devoradas por sus compañeras de jaula, cuando se produjo su disminución física debido al proceso de intoxicación.

El sexto lote, Serie VI, constaba de ratas hembras, a las cuales se les administró una dosis fija de HCB, de 50 mg/Kg de peso/día, habiéndose hecho previamente sideróticas mediante la administración de Hierro-dextrano, tres veces por semana, 15 días antes del comienzo de la intoxicación por HCB. El estudio de porfirinas se comenzó a las 4 semanas del comienzo de la intoxicación por HCB.

El séptimo lote, Serie VII, constaba de 6 ratas hembras, en las cuales se siguió la misma pauta de intoxicación seguida en el lote VI, la única diferencia con dicho lote se debe a que el análisis de las porfirinas se hizo semanalmente desde el comienzo de la intoxicación con HCB.

## 6.7. MÉTODOS ESTADÍSTICOS

### 6.7.1. Medidas dentro de un grupo

#### a) Media ( $\bar{x}$ )

$$\bar{x} = \frac{x_1}{N}$$

Es la suma de todos los datos del grupo ( $x_i$ ), dividida - por el número de datos ( $N$ ).

#### b) Desviación standard ( $s$ )

Es igual a la raíz cuadrada de la varianza.

La varianza ( $s^2$ ) equivale a la suma de los cuadrados de las desviaciones de cada dato con respecto a la media,  $(x_i - \bar{x})^2$ , dividida por el número de datos menos uno ( $N-1$ ).

$$s = (s^2) = \frac{(x_i - \bar{x})^2}{N-1}$$

#### c) Error standard de la media (ESM)

$$ESM = \frac{\text{Varianza}}{N} = \frac{(x_i - \bar{x})^2}{N(N-1)}$$

### 6.7.2. Comparación entre los valores medios de dos grupos

Si el dato estadístico observado es cuantitativo (muestras cuantitativas), es general, hallar los valores estadísticos de las muestras (media, varianza, etc...) y plantear el problema de si las dos muestras obtenidas pertenecen o no a una misma población, es decir, si la diferencia de medias encontradas puede explicarse como debida al azar en el proceso de muestreo, o bien realmente provienen de poblaciones distintas. Las pruebas estadísticas que se utilizan se denominan de comparación de medias y se resumen a continuación:

#### a) Intervalos de confianza de las medias

Si tenemos una muestra de tamaño  $N$  y de media  $\bar{x}$  y desviación standard  $s$ , obtenidas de una población Gaussiana, la media de la población  $\mu$ , se encuentra dentro del intervalo

$$\bar{x} - 1,96 \frac{s}{\sqrt{N}} \quad \text{---} \quad \bar{x} + 1,96 \frac{s}{\sqrt{N}} \quad p < 0,05$$

$$\bar{x} - 2,58 \frac{s}{\sqrt{N}} \quad \text{---} \quad \bar{x} + 2,58 \frac{s}{\sqrt{N}} \quad p < 0,01$$

en donde  $p$  indica el coeficiente de riesgo.

Lo anterior es aplicable cuando  $N \leq 30$ . En caso contrario, las medias obtenidas en el curso del muestreo siguen una "t" de Student, de forma que el intervalo de confianza de una media se obtiene:

$$\bar{x} \pm t_{0,05} \frac{s}{\sqrt{N}} \quad a'p \leq 0,05$$

$$\bar{x} \pm t_{0,01} \frac{s}{\sqrt{N}} \quad a'p \leq 0,01$$

Al comparar dos muestras  $E_1$  y  $E_2$  y representar los intervalos de confianza de la media de cada una, si estos intervalos no tienen parte común, podemos asegurar (con el nivel de riesgo correspondiente) que estas dos muestras se han obtenido de poblaciones distintas.

b) Utilización de la "t" de Student

Se emplea para decidir si las diferencias entre los valores medios de los grupos experimentales son estadísticamente significativas. El valor "t" viene dado por:

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\text{error standard de la diferencia de las medias}}$$

a) Si  $N_1 = N_2$

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{(x_1 - \bar{x})^2 + (y_1 - \bar{y})^2}{N(N-1)}}}$$

b) Si  $N_1 \neq N_2$

$$t = \frac{\bar{x} - \bar{y}}{\sqrt{\frac{1}{N_1} + \frac{1}{N_2} \frac{(x_i - \bar{x})^2 + (y_i - \bar{y})^2}{N_1 + N_2 - 2}}}$$

en donde:

$\bar{x}$  e  $\bar{y}$  : son medias de cada grupo

$N_1$  y  $N_2$  : son el nº de datos de cada grupo

Una vez obtenido el valor de "t", se calcula en las tablas de Student el valor de "p" para  $(N_1 + N_2 - 2)$  grados de libertad.

La "p" indica la probabilidad de que la diferencia entre las medias de dos grupos sea significativa y las medias de dos grupos sean significativas y no se deba a la casualidad. Como límite de significación se considera el 5% ( $p \leq 0,05$ ), o sea que sólo exista un 5% de probabilidad de que la diferencia entre las medias se deba a la casualidad.

### Regresión lineal

Para determinar la recta que mejor se ajuste a un número de puntos, se acude a la expresión:

$$y = a + bx$$

a = ordenada en el origen

b = coeficiente de regresión (pendiente de la recta)

El coeficiente de regresión es una medida de la dependencia de dos variables, dando información de la relación existente entre ambas:

$$b_{yx} = \frac{(xy) - \frac{xy}{N}}{(x_i - \bar{x})^2}$$

$$a_{yx} = \bar{y} - b_{yx} (\bar{x})$$

#### Coeficiente de correlación

El grado de relación existente entre dos variables viene dado por el valor del coeficiente de correlación, "r", -- que se obtiene de la siguiente fórmula:

$$r = \frac{(xy) - \frac{xy}{N}}{(x_i - \bar{x})^2 (y_i - \bar{y})^2}$$

siendo N = número de datos emparejados.

Seguidamente, con el valor de "r" y el número de datos -- emparejados menos dos, buscamos en las tablas de correlación el valor de "p". Una "p" menor del 5% ( $p \leq 0,05$ ), indica que entre ambas variables existe una relación, aunque no necesariamente de causalidad, ya que ambas pueden depender a su vez de una tercera variable.

#### IV. RESULTADOS

## 7. RESULTADOS

### 7.1. Excreción normal de porfirinas en ratas.

Hemos estudiado la eliminación urinaria y fecal de porfirinas, así como en hígado, en una muestra de 19 ratas, de ambos sexos, raza Wistar, escogidas al azar entre una población numerosa de animales de las mismas características. En la Tabla I indicamos la eliminación fecal, expresada en  $\mu\text{g}$  por 24 horas y en  $\mu\text{g}$  por gramo de heces desecadas. En la Tabla II reflejamos la eliminación de las porfirinas urinarias, expresada en  $\mu\text{g}$  por 24 horas. En la Tabla III presentamos el contenido en porfirinas del hígado expresado en  $\mu\text{g}$  por 100 gramos de tejido fresco. El resumen de los valores medios - del metabolismo porfirínico en el grupo de ratas normales - se encuentra reflejado en la Tabla IV.

La excreción biliar fue determinada solamente en 10 ratas y sus valores aparecen en la Tabla V.

Además de conocer la cuantía de la excreción porfirínica, nos interesaba estudiar la distribución cualitativa o - proporción en la que se encontraban las distintas fracciones de las porfirinas en las excretas. En las Tablas VI, VII y VIII se expresan los resultados obtenidos en orina, heces y bilis respectivamente. Observamos que en orina la fracción predominante es la COPRO, con mínimas cantidades de las demás fracciones. En heces, Tabla VII, la eliminación de Proto supone hasta más de un 80%. En bilis la fracción predominante es la COPRO, seguida de la PROTO (Tabla VIII). Se ha sugerido que la desproporcionada eliminación -



de PROTO en heces de rata es consecuencia, por una parte, de la transformación bacteriana de la COPRO en PROTO a nivel in testinal, y por otra a la eliminación en heces de Harderoporfirina, molécula tricarboxílica específica de la rata que se convierte rápidamente en PROTO.

En la Tabla IX, hacemos un estudio comparativo del peso del hígado en relación con el peso corporal de la rata, con el fin de expresar esta relación en tanto por ciento, utilizando las 19 ratas de las Tablas I y II.

En la Tabla X se expresan los valores medios de las distintas fracciones separadas en orina, bilis y heces, mediante Cromatografía en capa fina (TLC).

En la Tabla XI se expresa la excreción urinaria de los precursores en la orina recientes de las 19 ratas normales - tomadas como testigos.

TABLA I

PORFIRINAS EN HECES EN RATAS NORMALES

<u>Nº</u>	<u>µg/día</u>		<u>µg/g seco</u>	
	<u>COPRO</u>	<u>PROTO</u>	<u>COPRO</u>	<u>PROTO</u>
1	35	89	17	63
2	39	76	21	58
3	33	93	25	57
4	43	105	22	53
5	57	88	21	32
6	50	101	27	40
7	27	38	17	24
8	60	98	26	43
9	45	67	28	41
10	35	67	25	48
11	39	64	26	41
12	37	69	20	38
13	35	73	18	38
14	41	76	28	51
15	40	66	25	41
16	45	93	27	57
17	39	100	23	60
18	40	106	28	74
19	30	85	24	68

Método de Gajdos y Gajdos-Torök (43)

TABLA II  
PORFIRINAS URINARIAS EN RATAS NORMALES

$\mu\text{g}/\text{día}$

<u>Nº</u>	<u>COPRO</u>	<u>URO</u>
1	6,9	0,11
2	6,8	0,15
3	7,3	0,17
4	6,0	0,25
5	7,2	0,30
6	7,3	0,28
7	7,3	0,23
8	7,7	0,30
9	5,6	0,36
10	5,5	0,30
11	5,2	0,32
12	5,6	0,37
13	7,0	0,34
14	7,3	0,16
15	5,5	0,14
16	6,8	0,18
17	6,8	0,16
18	7,7	0,22
19	6,0	0,15

Método de Gajdos y Gajdos-Torök ( 43 )

TABLA III  
PORFIRINAS HEPATICAS EN RATAS NORMALES

<u>Nº</u>	<u>µg/100 g</u>		
	<u>URO</u>	<u>COPRO</u>	<u>PROTO</u>
1	2,0	14,0	27,4
2	2,7	10,3	29,0
3	2,3	10,0	15,4
4	2,4	16,6	22,0
5	2,0	17,3	20,6
6	2,0	15,4	20,9
7	2,0	15,4	20,8
8	1,7	18,6	21,7
9	2,2	19,6	22,5
10	1,7	18,6	21,7
11	0,0	20,6	23,2
12	0,0	16,7	20,3
13	2,3	17,6	22,7
14	1,7	19,1	30,0
15	0,0	18,1	22,0
16	1,3	19,6	24,2
17	1,7	16,1	13,3
18	0,0	17,2	24,2
19	0,7	13,7	18,3

Valores medios del metabolismo porfirínico en el grupo de ratas normales (N = 19)

TABLA IV

	<u><math>\bar{x}</math></u>	<u>s</u>
HIGADO: $\mu\text{g}/100\text{ g}$		
URO	1,51	0,88
COPRO	16,55	2,85
PROTO	22,12	3,94
HIGADO: Expresado en tanto por ciento		
URO	3,84	2,42
COPRO	41,31	5,84
PROTO	54,85	5,30
ORINA: $\mu\text{g}/\text{día}$		
URO	0,24	0,08
COPRO	6,61	0,80
HECES: $\mu\text{g}/\text{día}$		
COPRO	40,53	8,11
PROTO	81,79	17,00
HECES: $\mu\text{g}/\text{g seco}$		
COPRO	23,58	3,60
PROTO	48,79	12,56

7.1.4. Tasa de porfirinas en bilis de ratas normales

TABLA V

<u>Nº</u>	<u>GOPRO</u>		<u>PROTO</u>	
	<u>µg/día</u>	<u>µg/100 ml</u>	<u>µg/día</u>	<u>µg/100 ml</u>
1	2,40	41,51	1,07	20,85
2	----	30,00	----	27,00
3	0,52	7,97	0,43	6,64
4	2,00	17,00	1,00	8,60
5	1,42	9,95	0,70	20,26
6	1,06	23,15	0,41	8,82
7	0,57	6,22	0,25	2,76
8	3,72	52,36	2,17	30,55
9	1,32	36,62	0,46	12,73
10	0,44	12,21	0,17	4,63

RESULTADOS

<u>N =</u>	10,00	10,00	10,00	10,00
<u><math>\bar{x}</math> =</u>	1,52	24,73	0,74	13,25
<u>s =</u>	1,09	15,19	0,62	9,58

Reparto porcentual de las Carboxil-Porfirinas urinarias  
en ratas normales.

TABLA VI

Nº	<u>COOH</u>					<u>I<sub>PCT</sub></u>
	<u>8</u>	<u>7</u>	<u>6</u>	<u>5</u>	<u>4</u>	
1	27,75	6,45	---	---	65,80	8,93
2	16,65	3,07	Tr.	2,29	77,99	3,78
3	13,53	3,96	Tr.	Tr.	82,51	4,58
4	18,15	5,56	2,22	Tr.	74,07	6,98
5	18,79	10,43	3,84	Tr.	66,94	13,48
6	21,69	6,02	Tr.	---	72,29	7,69
7	16,76	5,74	1,03	2,94	73,53	7,24
8	21,89	8,50	2,05	1,42	66,14	11,39
9	24,02	4,34	Tr.	2,19	69,45	5,88
10	16,35	8,01	0,65	1,02	73,97	9,77
11	20,27	2,80	0,70	2,10	74,13	3,64
12	16,40	7,07	1,74	2,72	72,07	8,93
13	18,11	5,61	1,31	0,98	73,99	7,05
14	15,94	4,69	0,78	4,30	74,29	5,94
15	18,66	7,18	1,10	4,07	68,99	9,43
16	9,98	4,32	1,31	2,58	81,81	5,02
17	15,78	5,95	1,09	2,51	74,67	7,68
18	24,26	6,26	0,77	1,37	67,34	8,51
19	<u>20,76</u>	<u>4,03</u>	<u>0,85</u>	<u>1,27</u>	<u>73,09</u>	<u>5,23</u>
$\bar{x}$ =	18,72	5,79	1,03	1,67	72,79	7,43
s =	4,12	1,92	0,96	1,35	4,71	2,57

Reparto porcentual de las Carboxil-Porfirinas fecales  
en ratas normales.

TABLA VII

Nº	<u>COOH</u>						<u>I<sub>PCT</sub></u>
	<u>8</u>	<u>7</u>	<u>6</u>	<u>5</u>	<u>4</u>	<u>2</u>	
1	0,54	0,37	0,23	3,10	20,07	75,34	1,81
2	0,37	0,49	0,00	5,78	17,11	76,25	2,78
3	0,49	0,61	0,39	3,42	21,55	73,54	2,75
4	0,73	0,32	Tr.	5,37	21,17	72,41	1,49
5	0,15	0,56	0,00	3,07	24,74	71,48	2,21
6	0,00	0,00	0,34	4,49	19,96	75,21	0,00
7	3,93	1,34	0,47	3,57	22,46	68,23	5,63
8	0,00	0,00	0,25	4,22	17,63	77,90	0,00
9	Tr.	1,12	0,60	1,94	22,42	73,92	4,76
10	1,27	0,19	0,56	4,02	15,69	78,27	1,20
11	0,37	0,21	0,13	1,48	25,62	72,19	0,81
12	1,65	0,15	0,09	1,47	8,42	88,22	1,75
13	0,20	0,08	0,10	1,04	6,40	92,18	1,23
14	1,09	0,15	Tr.	1,16	6,03	91,18	2,43
15	0,71	0,00	0,30	0,68	7,13	91,57	0,00
16	0,24	0,00	0,00	0,66	7,12	91,98	0,00
17	0,58	0,21	0,32	1,02	7,92	89,95	2,58
18	0,27	0,13	Tr.	0,72	6,62	92,26	1,93
19	0,42	0,11	0,13	1,46	6,86	91,02	1,58
$\bar{x}$ =	0,69	0,32	0,21	2,56	15,00	81,22	1,84
s =	0,90	0,37	0,20	1,67	7,34	8,93	1,51



7.1.5. TLC de porfirinas en bilis de ratas normales. Expresado en valores porcentuales.

TABLA VIII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
1	0,00	Tr.	Tr.	4,52	1,41	50,23	43,84
2	0,00	0,00	0,00	4,58	1,48	51,66	42,28
3	0,00	0,00	0,00	1,89	1,68	41,10	55,33
4	1,91	0,32	0,32	4,93	2,23	39,21	51,08
5	Tr.	0,50	Tr.	1,46	0,12	44,21	53,71
6	1,72	0,00	0,00	0,00	0,00	56,65	40,08
7	Tr.	0,00	Tr.	3,18	0,00	56,12	40,70
8	0,00	0,00	0,00	0,81	0,00	67,59	31,60
9	Tr.	0,24	0,85	3,24	0,00	53,09	34,58
10	0,55	0,73	1,10	4,58	1,10	53,42	35,52
<hr/>							
$\bar{x}$ =	0,42	0,18	0,23	2,92	0,80	51,33	42,87
s =	0,72	0,25	0,39	1,69	0,82	7,92	7,77

7.1.6. Relación peso de hígado (PH)- Peso corporal (PC) en  
ratas normales

TABLA IX

<u>Nº</u>	<u>PESO CORPORAL</u>	<u>PESO HIGADO</u>	<u>% PH/PC</u>
1	325	17	5,20
2	320	15	4,60
3	305	12	3,90
4	430	14	3,20
5	450	15	3,30
6	250	13	5,20
7	435	16	3,60
8	360	16	4,40
9	380	15	3,90
10	390	15	3,80
11	330	13	3,90
12	300	13	4,30
13	390	14	3,50
14	330	13	3,30
15	390	14	3,60
16	390	15	3,80
17	490	17	3,40
18	515	20	3,80
19	560	16	2,80
Media =	386	15	3,87
D.S. =	77,37	1,83	0,62

REPARTO PORCENTUAL MEDIO DE LAS CARBOXIL-PORFIRINAS EN ORINA, HECEES Y BILIES OBTENIDO EN  
RATAS NORMALES

TABLA X

	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
ORINA							
$\bar{x}$ =	19,72	5,79	1,03	1,67		72,79	
D.S.=	4,12	1,92	0,96	1,35		4,71	
HECEES							
$\bar{x}$ =	0,69	0,32	0,21	2,56		15,00	81,22
D.S.=	0,90	0,37	0,20	1,67		7,34	8,93
BILIS							
$\bar{x}$ =	0,42	0,18	0,23	2,92	0,80	51,33	42,87
D.S.=	0,72	0,25 /	0,39	1,69	0,82	7,92	7,77

Excreción urinaria de los precursores de las Porfirinas  
en ratas normales.

TABLA XI

<u>Nº</u>	<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
	mg/l	
1	2,20	0,00
2	1,30	0,00
3	2,30	0,00
4	0,00	0,00
5	0,00	1,40
6	1,80	0,00
7	2,40	1,40
8	3,20	0,25
9	3,80	1,00
10	2,80	0,00
11	0,25	1,50
12	2,15	0,00
13	0,00	0,00
14	0,10	0,00
15	3,20	0,90
16	3,80	1,05
17	0,00	0,00
18	2,80	0,00
19	0,25	0,53
$\bar{x}$ =	1,70	0,42
s =	1,40	0,58

## 7.2. EXCRECION DE PORFIRINAS EN LA PORFIRIA EXPERIMENTAL INDUCIDA POR HEXACLOROBENCENO

Hemos estudiado la excreción porfirínica en un conjunto de ratas intoxicadas por HCB con pautas de administración diferentes. En las 28 ratas de la serie I el tóxico se ingirió mezclado con el pienso, en una proporción aproximada de 3 partes por cada mil. En las 6 ratas de la Serie II se empleó la administración directa a la rata mediante sonda gástrica, a dosis de 50 mg/Kg. de peso/día, junto a tres inyecciones semanales de 10 mg. de hierro-dextrano intraperitonealmente. En la Serie II, el tiempo de duración de la intoxicación fue la mitad del correspondiente a la Serie I.

Las series III, IV, V, VI y VII, la administración se hizo también por vía directa mediante sonda gástrica, pero utilizando como vehículo de suspensión del producto, aceite de oliva y variando las dosis, siendo éstas de 500-1.500 mg por Kg de peso/día en la Serie III; 100 mg/Kg de peso/día en la Serie IV; 50 mg/Kg de peso/día en las Series V, VI y VII. El cambio de dosificación en estas últimas series se hizo con el fin de conseguir una auténtica intoxicación en la que se visualizaran todas y cada una de las fases.

La cuantía de la eliminación urinaria y fecal de cada una de las últimas series, se determinó a distintos tiempos siempre que era posible, dado que algunas ratas se morían en etapas muy prematuras de la intoxicación o eran devoradas por sus compañeras de jaula. Los resultados de estos estudios quedan reflejados en las Tablas: XII, XIII, XIV, XV, XVI, XVII, XVIII, XIX, XX y XXI.

También se ha hecho un estudio en todas estas series del tanto por ciento del peso del hígado con respecto al peso corporal del animal, como índice de la Hepatomegalia producida - en este tipo de intoxicación. Estos resultados se encuentran reflejados en las Tablas: XXII, XXIII, XXIV, XXV y XXVI.

En la serie VII se ha realizado también un estudio de -- los precursores de las porfirinas durante el período de intoxicación. Los resultados se expresan en la Tabla XXVII.

En la Tabla XXVIII se presenta un resumen de los resultados de las cinco primeras series en comparación con ratas normales.

7.2.1. Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Eliminación uri  
naria y fecal de porfirinas.

TABLA IXII  
SERIE I

- Hexaclorobenceno administrado en la dieta al 0,3%
- Tiempo de intoxicación: 15 semanas

<u>PESO</u> g	<u>ORINA</u>				<u>HEGES</u>	
	<u>μg/día</u> <u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>μg/día</u> <u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>μg/g seco</u> <u>CP</u>	<u>PP</u>
350	32	84	114	104	53	48
490	26	21	71	74	35	37
380	18	14	75	61	33	27
480	31	34	73	87	27	32
380	32	82	93	65	44	31
300	21	37	75	63	37	32
380	28	73	94	76	44	35
220	25	107	109	54	64	32
220	49	66	15	72	37	41
220	32	42	69	49	27	19
300	17	53	83	68	45	37
270	28	56	81	67	46	38
400	22	54	84	71	42	35
430	17	40	85	70	41	34

Indice de mortalidad: 14 de 28 = 50%

Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Eliminación urinaria -  
y fecal de porfirinas.

TABLA X III

SERIE II

- Hexaclorobenceno administrado por sonda gástrica en suspen--  
sión de suero-goma.

- Dosis: 50 mg/Kg/día

- Infeon: 10 mg. tres veces por semana por vía intraperito- -  
neal.

- Tiempo de intoxicación: 5 semanas.

<u>PESO</u> g	<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>μg/día</u>	<u>μg/día</u>	<u>μg/día</u>	<u>μg/g seco</u>	<u>μg/g seco</u>	<u>μg/g seco</u>
	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
270	13	38	68	70	35	36
250	27	76	105	98	48	45
280	69	131	89	70	32	25
260	29	93	90	77	47	40
260	40	113	108	86	34	27
250	27	116	106	67	53	34

Indice de mortalidad: 0



Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Eliminación urinaria y fecal de porfirinas

TABLA XIV  
SERIE III

- HCB administrado por sonda gástrica en suspensión de aceite de oliva.
- Dosis: 500-1.500 mg/Kg/día
- Infeon: 10 mg. Tres veces por semana por vía intraperitoneal.
- Tiempo de intoxicación: 3 semanas
- Análisis de orina y heces a las dos semanas.

<u>PESO</u> g	<u>SEXO</u>	<u>ORINA</u> μg/día		<u>HECES</u> μg/g seco	
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
250	M	39	5	13	35 ++
270	M	44	2	9	39
240	M	27	2	9	28 +
250	M	49	4	8	27
250	M	10	0	6	30
250	H	8	2	8	23
240	H	16	2	12	30 +
250	H	5	1	8	24
240	H	4	1	10	32 +
240	H	8	1	7	22

SERIE III

Análisis de porfirinas a las 3 semanas de intoxicación -  
en las ratas supervivientes.

++ Devorada por sus compañeras de jaula

+ Muertas por intoxicación.

<u>PESO</u> g	<u>SEXO</u>	<u>ORINA</u> μg/día		<u>HECES</u> μg/g seco	
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
290	M	146	49	67	92
220	M	--	--	--	--
300	M	35	79	18	78
260	H	--	--	--	--
250	H	--	--	5	31
150	H	4	26	1	99

Indice de mortalidad: 4 de 10 = 40%

Ratas porfíricas por hexaclorobenceno: Eliminación urinaria y fecal de porfirinas.

TABLA XX.  
SERIE IV

- HCB administrado por sonda gástrica en suspensión de aceite de oliva.
- Dosis: 100 mg/Kg/día
- Infeon: 10 mg tres veces por semana por vía intraperitoneal.
- Tiempo de intoxicación: 7 semanas
- Análisis de orina y heces: 3 semanas

<u>PESO</u> g	<u>SEXO</u>	<u>ORINA</u> $\mu\text{g}/\text{día}$		<u>HECES</u> $\mu\text{g}/\text{g seco}$	
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
180	H	0,5	0	4	26
160	H	9	2	9	28
160	H	6	2	7	25
150	H	-	-	-	-- ++
150	H	1	0,5	5	26

++ Muerte accidental en la administración.

SERIE IV

- Análisis de orina y heces a las 5 semanas de administración

<u>PESO</u> g	<u>SEXO</u>	<u>ORINA</u> μg/día		<u>HECES</u> μg/g seco	
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
180	H	22	73	90	302
160	H	8	5	98	219
200	H	71	88	58	101
200	H	5	2	23	63

Indice de mortalidad: 1 de 5 = 20%

Ratas porfíricas por hexaclorobenceno: Eliminación urinaria y fecal de porfirinas.

TABLA XV.I

SERIE V

- HCB por sonda gástrica en suspensión de aceite de oliva
- Dosis: 50 mg/Mg/día
- Infeon: 10 mg tres veces por semana por vía i.p.
- Tiempo de intoxicación: 12 semanas
- Análisis de orina y heces: 5 semanas

<u>PESO</u> g	<u>SEXO</u>	<u>ORINA</u> µg/día		<u>HECES</u> µg/g seco		
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	
220	H	194	18	16	36	
240	H	76	9	14	68	
260	H	--	--	--	--	++
230	H	--	--	--	--	++
240	H	218	660	25	57	
490	M	10	2	8	37	
440	M	58	10	24	45	
460	M	30	4	14	54	
430	M	9	2	27	52	
470	M	84	23	19	31	

-76-

SERIE V

- Análisis de orina y heces a las 7 semanas

<u>PESO</u> g	<u>SEXO</u>	<u>ORINA</u> $\mu\text{g}/\text{día}$		<u>HECES</u> $\mu\text{g}/\text{g seco}$	
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
240	H	49	10	8	16
260	H	25	6	3	9
280	H	--	--	--	--
460	M	6	26	36	53
440	M	7	91	60	56
430	M	8	97	42	58
490	M	4	22	79	54
450	M	6	122	103	73

Indice de mortalidad: 2 de 10 = 20%

Las dos ratas primeras de esta serie, continúan con la - intoxicación hasta las 15 semanas. Al cabo de éstas, los análisis de porfirinas fueron los siguientes:

<u>PESO</u> g	<u>SEXO</u>	<u>ORINA</u> $\mu\text{g}/\text{día}$		<u>HECES</u> $\mu\text{g}/\text{g seco}$	
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
230	H	102	121	46	28
270	H	113	117	28	53

Ratas porfíricas por hexaclorobenceno: Eliminación urinaria y fecal de porfirinas.

TABLA XVII

SERIE VI

- HCB por sonda gástrica en suspensión de aceite de oliva
- Dosis: 50 mg/Kg/día
- Infección: 15 días previos a la intoxicación por HCB, a razón de 10 mg/día
- Tiempo de intoxicación: 14 semanas
- Análisis de Porphirinas: Antes del comienzo del tratamiento

<u>PESO</u>	<u>ORINA</u>				<u>HECES</u>		
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24 \text{ h}$		$\mu\text{g}/\text{g seco}$		$\mu\text{g}/24 \text{ h}$	
170	12	3,53	0,25	2,00	28,00	4,92	74,61
180	15	7,75	0,12	3,00	32,00	3,57	47,27
210	10	2,60	0,00	4,00	54,00	4,53	67,05
170	9,5	4,98	0,17	4,00	26,00	7,25	43,30
210	8	3,85	0,33	5,00	31,00	6,92	43,10
<hr/>							
Media	$\pm$	4,54	0,17	3,60	34,20	5,44	55,07
D.S.	=	1,98	0,13	1,14	11,32	1,59	14,73

SERIE VI

- Análisis de Porfirinas tras 15 días de Interon: 10 mg/día

<u>PESO</u>	<u>ORINA</u>				<u>HECES</u>		
	<u>D</u> ml	<u>CP</u> $\mu\text{g}/24 \text{ h}$	<u>UP</u> $\mu\text{g}/24 \text{ h}$	<u>CP</u> $\mu\text{g}/\text{g seco}$	<u>PP</u> $\mu\text{g}/24 \text{ h}$	<u>CP</u> $\mu\text{g}/24 \text{ h}$	<u>PP</u> $\mu\text{g}/24 \text{ h}$
190	8,50	2,95	0,51	6,81	48,06	9,35	65,91
200	8,25	9,99	0,98	7,25	37,88	7,93	41,39
230	13,00	2,26	0,68	5,49	46,66	6,01	51,08
190	4,75	2,06	0,39	9,52	80,11	9,00	76,83
230	9,25	2,35	0,55	6,00	63,00	6,85	73,00
		<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
Media	=	3,92	0,62	7,01	55,24	7,83	61,44
D.S.	=	3,41	0,23	1,56	16,62	1,41	14,75



SERIE VI

- Análisis de porfirinas: 4 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>				<u>HECES</u>	
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24\text{ h}$		$\mu\text{g/g seco}$		$\mu\text{g}/24\text{ h}$	
240	31,5	26,50	10,40	23,00	45,00	39,00	77,00
230	2,5	15,90	1,99	40,00	73,00	67,00	122,00
290	12,5	15,80	7,30	35,00	76,00	103,00	223,00
260	2,5	12,05	8,14	58,00	104,00	68,00	121,00
<hr/>							
Media	=	16,56	6,96	39,00	74,50	69,25	135,75
D.S.	±	6,22	3,56	14,54	24,12	26,21	61,84

SERIE VI

- Análisis de Porfirinas: 6 semanas del comienzo de la intoxicación con HCB.

<u>PESO</u>	<u>D</u>	<u>ORINA</u>			<u>HECES</u>		
		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24 \text{ h}$		$\mu\text{g}/\text{g seco}$		$\mu\text{g}/24 \text{ h}$	
240	16	42,00	239,00	51,00	111,00	146,00	319,00
240	16	57,00	84,00	77,00	65,00	242,00	205,00
280	16	50,00	160,00	141,00	125,00	165,00	147,00
240	16	39,00	254,00	64,00	62,00	144,00	141,00
<hr/>							
Media	=	47,00	184,25	83,25	90,75	174,25	203,00
D.S.	=	8,12	78,53	39,94	32,00	46,15	82,54

SERIE VI

- Análisis de Porfirinas: 8 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>				<u>HECES</u>	
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24\text{ h}$		$\mu\text{g}/\text{g seco}$		$\mu\text{g}/24\text{ h}$	
270	5,5	17,00	172,00	29,00	24,00	40,00	33,00
240	13,0	57,00	118,00	51,00	55,00	84,00	91,00
280	3,5	56,00	181,00	16,00	26,00	21,00	32,00
240	12,0	34,00	216,00	30,00	16,00	60,00	32,00
		-----	-----	-----	-----	-----	-----
Media	=	41,00	171,75	31,50	30,25	51,25	47,00
D.S.	=	19,20	40,55	14,48	17,06	27,02	29,34

SERIE VI

- Análisis de Porfirinas: 12 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>				<u>HECES</u>	
<u>D</u>		<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24 \text{ h}$		$\mu\text{g/g seco}$		$\mu\text{g}/24 \text{ h}$	
280	8,0	49,00	178,00	19,00	14,00	51,00	36,00
270	10,0	55,00	71,00	28,00	38,00	81,00	112,00
330	17,0	25,00	219,00	38,00	34,00	29,00	27,00
300	17,5	75,00	377,00	39,00	20,00	121,00	62,00
		-----	-----	-----	-----	-----	-----
Media	=	51,00	211,25	31,00	26,50	70,50	59,25
D.S.	=	20,59	126,90	9,42	11,36	39,85	38,17

SERIE VI

- Análisis de Porfirinas: 14 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	μg/24 h		μg/g seco		μg/24 h	
290	3,5	69,00	306,00	52,00	64,00	63,00	78,00
270	16,0	151,00	68,00	83,00	64,00	172,00	133,00
330	16,0	63,00	434,00	77,00	30,00	80,00	52,00
300	10,0	141,00	273,00	60,00	39,00	155,00	102,00
<hr/>							
Media	=	76,75	268,75	55,75	45,75	93,25	80,25
D.S.	=	45,48	154,34	17,86	14,66	41,78	35,36

TABLA XVIII

Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Eliminación urinaria y fecal de porfirinas.

SERIE VII

- HCB por sonda gástrica en suspensión de aceite de oliva.
- Dosis: 50 mg/Kg/día
- Infeon: 15 días previos a la intoxicación por HCB, a razón de 10 mg diarios.
- Tiempo de intoxicación: 11 semanas.
- Análisis de Porphirinas: Antes del comienzo del tratamiento

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24\text{ h}$		$\mu\text{g/g seco}$		$\mu\text{g}/24\text{ h}$	
190	7,5	4,60	1,68	2,35	6,05	9,52	24,42
210	12	4,20	0,96	4,24	7,21	17,69	30,06
220	9,5	3,78	0,74	8,69	33,45	31,95	122,91
180	3,5	1,86	0,37	3,88	14,29	11,04	40,62
170	12,5	17,43	3,11	3,60	16,17	14,76	66,20
170	7,8	12,80	1,33	2,60	10,53	11,15	45,16
<hr/>							
Media	=	7,45	1,37	4,23	14,62	16,02	55,90
D.S.	=	5,64	0,87	2,10	9,14	7,62	33,15

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: Tras Infección

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
<u>g</u>	<u>ml</u>	<u>μg/24 h</u>		<u>μg/g seco</u>		<u>μg/24 h</u>	
190	6,25	3,13	0,00	2,86	10,32	12,80	46,12
200	9,5	3,80	0,00	1,98	6,04	7,84	23,95
220	7	1,69	0,39	3,45	11,32	8,03	26,35
180	7	3,22	0,49	1,64	13,17	7,82	62,96
180	23	6,67	0,92	3,96	14,81	19,15	71,60
190	17,5	8,58	0,00	8,64	21,56	26,24	65,45
<hr/>							
Media	=	4,52	0,30	3,76	12,87	13,65	49,41
D.S.	=	2,34	0,34	2,31	4,74	6,93	18,80

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 1 semana de la intoxicación por HCB

<u>PESO</u>	<u>ORINA</u>				<u>HECES</u>		
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
<u>g</u>	<u>ml</u>	<u>μg/24 h</u>		<u>μg/g seco</u>		<u>μg/24 h</u>	
250	11	4,73	1,87	1,13	7,11	1,93	12,16
220	10	3,10	0,30	2,90	15,64	9,76	52,66
250	8	1,84	0,34	4,08	10,67	10,17	26,59
210	10	3,00	0,47	6,64	14,58	27,93	61,35
250	15	6,60	1,31	0,66	12,32	1,95	36,30
250	13	8,50	0,97	0,57	6,60	2,38	27,48
<hr/>							
Media	=	4,63	0,88	2,66	11,15	9,02	36,09
D.S.	=	2,29	0,57	2,18	3,44	9,16	16,58



SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 2 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>			<u>HECES</u>		
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24\text{ h}$		$\mu\text{g}/\text{g seco}$		$\mu\text{g}/24\text{ h}$	
260	10,5	4,36	0,57	3,84	17,10	30,63	137,14
250	5,5	3,24	0,94	4,24	14,06	24,10	81,33
260	9,7	5,14	0,72	9,78	37,40	47,38	181,20
230	7	3,11	0,35	8,50	23,88	60,83	172,29
260	8	10,50	3,79	6,20	19,50	26,70	84,15
270	10	17,40	2,74	6,33	21,67	28,20	96,54
<hr/>							
Media	=	7,39	1,52	6,48	22,27	36,31	125,44
D.S.	=	5,08	1,28	2,12	7,45	13,30	40,68

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 3 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>	<u>ORINA</u>					<u>HECES</u>	
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24\text{ h}$		$\mu\text{g/g seco}$		$\mu\text{g}/24\text{ h}$	
260	9,5	6,27	1,81	7,17	9,15	11,32	14,44
240	8,8	7,74	2,99	13,02	18,58	8,49	12,21
270	6,3	4,28	1,96	16,60	23,17	62,02	86,58
220	4,5	2,21	0,16	14,70	14,88	45,78	46,34
270	15	25,09	2,69	4,20	7,26	7,66	13,13
270	14	27,45	1,58	4,46	6,20	8,95	12,45
<hr/>							
Media	=	12,17	1,87	10,03	13,21	24,04	30,84
D.S.	=	10,13	0,90	4,94	6,20	21,65	27,74

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 4 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
<u>g</u>	<u>ml</u>	<u>μg/24 h</u>		<u>μg/g seco</u>		<u>μg/24 h</u>	
250	9,3	13,02	1,02	22,70	26,59	70,03	82,06
230	6,6	16,30	3,70	37,28	50,18	89,34	120,24
260	2,8	9,52	12,85	38,05	32,74	87,26	75,09
240	6,6	10,82	1,58	19,46	23,70	66,37	80,84
260	9,5	41,61	10,18	16,45	20,02	21,31	25,94
260	16	15,04	0,48	16,22	33,82	24,57	51,23
		_____	_____	_____	_____	_____	_____
Media	=	17,72	4,97	25,03	31,18	59,81	72,57
D.S.	=	10,92	4,79	9,18	9,74	27,38	29,05

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 5 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	μg/24 h		μg/g seco		μg/24 h	
270	13	8,97	10,40	17,03	16,52	38,93	37,77
260	13	26,00	48,23	14,76	22,49	12,38	18,86
290	9	50,85	76,51	23,54	17,75	26,36	19,87
250	7	15,89	33,25	27,74	17,65	61,16	38,90
290	13	89,83	102,74	34,52	29,55	32,28	27,72
290	15	61,95	46,80	31,88	27,56	67,96	58,74
<hr/>							
Media	=	42,25	53,16	24,91	21,92	39,86	33,64
D.S.	=	28,25	29,97	7,26	5,08	19,31	13,65

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 6 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>			<u>HECES</u>		
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24\text{ h}$		$\mu\text{g}/\text{g seco}$		$\mu\text{g}/24\text{ h}$	
270	14	42,38	31,27	21,02	12,05	46,43	26,62
240	16	69,54	89,35	23,60	26,48	34,74	38,97
270	14	40,88	96,75	22,31	36,12	22,31	36,12
230	15	30,75	71,55	27,63	36,29	47,48	62,36
280	15	100,88	112,19	27,27	74,42	29,50	80,50
280	13	64,89	77,09	58,67	42,24	102,31	73,66
		<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
Media	=	58,22	79,70	30,08	37,93	47,13	53,04
D.S.	=	23,44	25,35	13,01	18,96	26,21	20,19

SERIE VII

↓ Análisis de Porfirinas: 7 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
<u>g</u>	<u>ml</u>	<u>μg/24 h</u>		<u>μg/g seco</u>		<u>μg/24 h</u>	
260	13	74,49	57,33	26,64	9,20	74,87	25,86
250	14	73,64	129,98	19,34	8,50	31,67	13,96
270	15	101,40	176,85	32,16	45,82	62,18	88,58
230	14	139,58	107,52	13,17	8,32	15,52	9,81
280	15	62,87	130,20	28,68	11,24	65,97	25,86
280	13	30,59	116,74	22,84	15,00	30,21	19,84
<hr/>							
Media	=	80,43	119,77	23,81	16,35	46,74	30,65
D.S.	=	33,69	35,42	6,24	13,37	21,88	26,55

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 7 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>		<u>HECES</u>			
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
<u>g</u>	<u>ml</u>	<u>μg/24 h</u>		<u>μg/g seco</u>		<u>μg/24 h</u>	
270	15	67,50	150,75	64,78	100,82	66,55	103,56
250	14	54,32	145,88	41,34	29,49	29,31	20,91
270	12	65,88	357,36	99,11	158,36	77,49	123,81
240	12	68,88	184,20	81,44	237,58	62,19	181,42
270	15	46,65	127,50	15,41	31,99	20,03	45,58
270	16	29,79	112,96	16,04	17,20	30,47	32,68
		<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
Media	=	55,50	179,78	53,02	95,92	47,67	84,66
D.S.	=	13,98	82,39	31,59	80,30	21,81	57,07

SERIE VII

- Análisis de Porfirinas: 11 semanas de intoxicación por HCB

<u>PESO</u>		<u>ORINA</u>			<u>HECES</u>		
	<u>D</u>	<u>CP</u>	<u>UP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>CP</u>	<u>PP</u>
g	ml	$\mu\text{g}/24\text{ h}$		$\mu\text{g}/\text{g seco}$		$\mu\text{g}/24\text{ h}$	
230	13	73,32	155,61	65,21	53,46	141,94	116,40
220	12	139,24	251,29	28,06	28,43	68,26	69,16
240	14	94,22	312,76	31,70	37,94	18,96	22,68
200	9	61,29	118,17	18,93	30,89	17,96	29,30
250	12	85,80	126,84	43,94	23,71	33,07	17,84
270	15	144,00	303,60	45,99	28,60	79,50	49,30
<hr/>							
Media	=	99,65	211,38	38,97	33,84	59,95	50,78
D.S.	=	31,39	80,94	14,92	9,73	43,47	34,11



TABLA XIX

Eliminación de los precursores de las porfirinas en orina reciente de las ratas de la Serie VII

- Tiempo: Antes del comienzo de la intoxicación

	<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
	mg/l	
	2,00	0,28
	1,35	0,04
	0,65	0,00
	0,30	0,00
	0,25	0,07
	1,10	0,35
	—	—
Media =	0,94	0,12
D.S. =	0,62	0,14

- Análisis de Precursores de las porfirinas tras Infección

<u>Rata nº</u>	<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
	mg/l	
1	0,00	0,00
2	1,30	0,00
3	0,85	0,00
4	0,00	0,00
5	1,80	0,56
6	2,30	0,68
	—	—
Media =	1,04	0,21
D.S. =	0,86	0,30

SERIE VII

- Análisis de precursores de las Porfirinas a la 1ª semana de intoxicación por HGB

<u>Rata nº</u>	<u>ALA</u> mg/l	<u>PBG</u>
1	0,85	0,20
2	0,80	0,39
3	0,63	0,36
4	0,00	0,08
5	1,20	0,68
6	0,57	0,38
	—	—
Media =	0,68	0,35
D.S. =	0,36	0,20

SERIE VII

- Análisis de precursores de porfirinas a la 2ª semana de intoxicación por HCB.

<u>Rata nº</u>	<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
	mg/l	
1	0,00	0,00
2	0,20	0,00
3	0,00	0,00
4	0,00	0,00
5	1,90	0,07
6	0,75	0,05
	—	—
Media =	0,48	0,02
D.S. =	0,60	0,031

SERIE VII

- Análisis de precursores en orina reciente a la 3ª semana de intoxicación por HCB.

<u>Rata nº</u>	<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
	mg/l	
1	8,05	0,07
2	5,23	0,00
3	3,91	0,82
4	2,00	0,24
5	6,40	0,00
6	2,50	0,00
	—	—
Media =	4,68	0,19
D.S. =	2,13	0,28

-100-

SERIE VII

- Análisis de precursores en orina reciente a la 4ª semana de intoxicación por HCB.

<u>Rata nº</u>		<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
		mg/l	
1		3,40	0,39
2		0,80	0,31
3		0,00	0,13
4		0,00	0,34
5		8,60	1,84
6		2,70	0,82
		—	—
Media	=	2,58	0,64
D.S.	=	2,98	0,57

SERIE VII

- Análisis de precursores en orina reciente a las 5 semanas  
de intoxicación por HCB

<u>Rata nº</u>	<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
	mg/l	
1	1,20	0,00
2	1,30	0,00
3	25,50	9,35
4	1,85	2,68
5	177,50	26,23
6	45,00	6,52
	<hr/>	<hr/>
Media =	42,06	7,46
D.S. =	62,68	9,04

SERIE VII

- Análisis de precursores en orina reciente a las 6 semanas de intoxicación por HCB.

<u>Rata nº</u>		<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
		mg/l	
1		20,50	7,22
2		49,00	8,07
3		172,70	42,86
4		6,50	12,46
5		196,50	45,33
6		146,00	29,32
		<hr/>	<hr/>
Media	=	98,53	24,21
D.S.	=	75,68	15,84



SERIE VII

- Análisis de precursores en orina reciente a las 7 semanas  
de intoxicación por HCB

<u>Rata nº</u>		<u>ALA</u> mg/l	<u>PBG</u>
1		17,40	11,33
2		169,50	47,64
3		119,70	56,65
4		105,00	26,91
5		740,00	61,19
6		314,00	45,47
		<hr/>	<hr/>
Media	=	244,27	41,53
D.S.	=	238,94	17,29

SERIE VII

- Análisis de precursores en orina reciente a las 9 semanas  
de intoxicación por HCB

<u>Rata nº</u>	<u>ALA</u>	<u>PBG</u>
	mg/l	
1	22,40	16,40
2	180,20	53,80
3	56,00	43,00
4	142,80	26,60
5	126,00	23,80
6	122,00	22,60
	<hr/>	<hr/>
Media	= 108,23	31,03
D.S.	= 53,19	13,03

7.2.2. Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Contenido de -  
porfirinas en hígado. Tanto por ciento de peso del hí  
gado con respecto a peso corporal.

TABLA XX  
SERIE I

<u>Nº</u>	<u>PC</u>	<u>PH</u>	<u>PORFIRINAS EN HIGADO</u>			<u>% PH/PC</u>
	<u>g</u>	<u>g</u>	<u>µg/100 g</u>			
			<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>UP</u>	
2	350	21	54	47	495	6
3	490	24	33	26	172	4,8
5	380	21	54	47	203	5,5
6	480	23	55	21	194	4,7
7	380	28	47	16	412	7,3
9	300	24	66	49	361	8
10	380	30	32	29	456	7,8
14	220	16	87	95	617	7,2
15	220	13	26	35	340	5,9
16	220	13	70	73	317	5,9
17	300	19	30	86	257	6,3
18	270	15	44	38	414	5,5
27	400	23	18	23	319	5,7
28	430	24	33	21	203	5,5
	—	—	—	—	—	—
$\bar{X}$ =	344	21	46	43	340	6,15

Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Contenido de porfirinas en hígado. Tanto por ciento del peso del hígado sobre peso corporal.

TABLA XXI  
SERIE II

<u>Nº</u>	<u>PC</u> g	<u>PH</u> g	<u>PORFIRINAS EN HIGADO</u> ug/100 g			<u>%PH/PC</u>
			<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>UP</u>	
1	270	14	20	27	208	5,10
2	250	15	31	20	362	6,00
3	280	22	38	35	617	7,80
4	260	16	37	12	356	6,10
5	260	17	46	11	419	6,50
6	250	17	23	19	668	6,80
<hr/>						
Media	262	17	32,5	20,7	438,33	6,38
D.S.	10,67	2,54	8,9	8,3	158,48	0,82

Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Contenido de porfirinas en hígado. Tanto por ciento del peso del hígado sobre el peso corporal.

TABLA XXII  
SERIE III

<u>Nº</u>	<u>PC</u> g	<u>PH</u> g	<u>PORFIRINAS EN HIGADO</u> µg/100 g			<u>%PH/PC</u>
			<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>UP</u>	
2	290	28,0	85	12	3	9,6
4	220	24,4	8	10	9	11,0
5	300	22,0	27	14	19	7,3
6	260	16,0	13	5	0	6,1
8	250	14,0	22	0	0	5,6
10	220	16,0	20	18	12	7,2
<hr/>						
Media	257	20,0	29,2	9,8	7,2	7,8
D.S.	30,9	5,1	25,7	5,9	6,9	1,9

Ratas porfíricas por Hexaclorobenceno: Contenido de porfirinas en hígado. Tanto por ciento de peso de hígado sobre peso corporal.

TABLA XXIII  
SERIE IV

<u>Nº</u>	<u>PC</u>	<u>PH</u>	<u>PORFIRINAS EN HIGADO</u>			<u>%PH/PC</u>
	<u>g</u>	<u>g</u>	<u>µg/100 g</u>			
			<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>UP</u>	
1	180	12,19	34	63	72	6,7
2	160	13,77	37	42	332	8,6
3	200	12,66	69	92	848	6,3
5	200	14,70	1	19	29	7,3
	—	—	—	—	—	—
$\bar{x} =$	185	13,33	35,25	54	320,25	7,2
D.S.	17	0,98	24,07	26,9	326	0,87

Ratas porfíricas por hexaclorobenceno: Contenido de porfirinas en hígado. Tanto por ciento de peso de hígado sobre peso corporal.

TABLA XXIV

SERIE V

<u>Nº</u>	<u>PC</u> g	<u>PH</u> g	<u>PORFIRINAS EN HIGADO</u> $\mu\text{g}/100\text{ g}$			<u>%PH/PC</u>
			<u>CP</u>	<u>PP</u>	<u>UP</u>	
1	230	15,7	123	28	382	6,8
2	270	14,5	147	0	648	5,3
5	280	16,0	212	140	1196	5,7
6	460	29,0	154	27	123	6,1
7	440	21,0	83	24	31	4,7
8	430	18,6	196	84	179	4,3
9	490	22,5	23	22	0	4,6
10	450	30,4	98	56	119	6,7
<hr/>						
$\bar{x}$ =	381	20,9	129,5	47,6	334,75	5,5
D.S.	96	5,7	57,7	42,2	381,13	0,9

RATAS PORFIRICAS POR HCB: Tanto por ciento de peso hígado -  
con relación al peso corporal.

TABLA XXV  
SERIE VI

<u>Nº</u>	<u>PESO CORPORAL</u>	<u>PESO HIGADO</u>	<u>% PH/PC</u>
2	290	11,97	4,1
3	300	11,26	3,7
4	340	13,71	4,3
5	300	16,05	5,3
<hr/>			
Media =	307,5	13,25	4,35
D.S. =	19,20	1,83	0,59



-111-

RATAS PORFIRICAS PCR HCB: Tanto por ciento de peso hígado --  
con relación al peso corporal

TABLA XXVI

SERIE VII

<u>Nº</u>	<u>PESO CORPORAL</u>	<u>PESO HIGADO</u>	<u>% PH/PC</u>
1	160	11,02	6,80
2	250	11,00	4,40
3	240	13,80	5,70
4	220	8,81	4,00
6	270	13,53	5,00
7	270	11,30	4,10
<hr/>			
Media =	235	11,58	5,00
D.S. =	37,74	1,66	0,98



BIBLIOTECA

METABOLISMO PORFIRINICO EN LA PORFIRIA EXPERIMENTAL POR HEXACLOREBENCENO.  
VALORES MEDIOS Y (DESVIACION STANDARD).

TABLA XXVII

RATAS SERIE	SEMANAS INTOX.	PESO CORPORAL	PESO HIGADO	PH/PC x 100	FRACCIONES PORFIRINICAS				
					COPRO	URO	COPRO	HECES	PROTO
I (n=20)	15	327.00 (82.00)	20.70 (4.70)	6.20 (1.00)	27.00 (12.00)	66.00 (33.00)	87.00 (13.00)	72.00 (13.00)	
II (n=6)	5	262.00 (12.00)	16.80 (2.80)	6.40 (0.90)	34.00 (17.00)	93.00 (31.00)	94.00 (14.00)	78.00 (11.00)	
III (n=6)	3	262.00 (29.00)	20.10 (5.60)	7.80 (2.10)	62.00 (61.00)	51.00 (22.00)	46.00 (36.00)	150.00 (52.00)	
IV (n=4)	7	185.00 (19.00)	13.30 (1.10)	7.20 (1.00)	26.00 (26.00)	42.00 (39.00)	134.00 (50.00)	240.00 (110.00)	
V (n=8)	7	381.00 (103.00)	21.00 (6.00)	5.50 (0.90)	15.00 (15.00)	53.00 (45.00)	94.00 (54.00)	92.00 (42.00)	
VI (n=4)	14	307.00 (19.00)	13.35 (1.83)	4.35 (0.59)	76.75 (45.48)	268.75 (154.34)	93.25 (41.78)	80.75 (35.36)	
VII (n=6)	11	235.00 (37.74)	11.58 (1.66)	5.00 (0.89)	99.65 (31.39)	211.38 (80.95)	59.95 (43.47)	50.78 (34.11)	
Normales (n=19)	--	386.00 (77.37)	15.00 (1.83)	3.87 (0.62)	6.61 (0.80)	0.24 (0.08)	40.53 (8.11)	81.79 (17.00)	

112

7.2.3. Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante --  
Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas en  
orina. Serie I y II.

TABLA XXVII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>
	% del total de Porphirinas				
18	34,10	30,20	14,30	10,00	11,40
21	41,70	34,30	7,50	4,50	12,00
27	36,60	6,00	----	8,70	48,70
28	54,70	30,00	----	----	15,30
1	58,10	19,30	2,40	2,40	17,80
2	56,50	30,90	----	----	12,60
4	35,80	31,90	7,50	5,80	19,00
5	24,60	31,40	26,10	----	17,90

Las cuatro primeras ratas corresponden a la Serie I y  
las cuatro últimas a la Serie II.

Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas urinarias de las Series III, IV y V en la fase inicial de intoxicación.

TABLA XXVIII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>
	% del total de porfirinas				
3	0,30	Tr.	----	Tr.	99,70
4	4,20	4,02	-----	2,62	89,16
5	5,40	5,07	Tr.	----	89,53
2	2,04	Tr.	Tr.	8,61	89,44
3	9,40	----	----	----	90,59
5	3,16	----	----	11,55	85,29
1	8,54	6,04	2,08	7,29	77,05
2	----	----	----	----	100,00
5	8,71	6,91	1,20	5,10	78,08
6	Tr.	Tr.	----	----	100,00
7	2,42	----	----	0,91	96,67
8	4,91	----	----	Tr.	95,09
9	Tr.	----	Tr.	Tr.	100,00
10	31,21	8,07	1,27	Tr.	59,45

Ratas porfíricas por HCB: TLC de porfirinas urinarias de las series III, IV y V, en la última etapa de intoxicación.

TABLA XXIX

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>
	% del total de porfirinas				
2	32,76	13,03	8,81	9,96	35,44
5	10,13	3,70	3,21	21,23	61,73
1	69,55	10,47	3,36	5,06	11,56
2	29,57	10,52	5,47	15,87	38,57
3	68,32	10,54	1,94	4,65	14,55
5	25,04	15,86	2,28	2,02	64,80
1	11,15	15,20	13,18	9,80	50,67
2	33,11	25,34	8,78	5,74	27,03
5	51,50	10,70	7,59	10,85	19,36
6	39,39	Tr.	----	----	60,61
8	14,37	----	----	13,77	71,86
9	15,29	14,65	8,28	10,83	50,95
10	72,84	7,35	Tr.	3,83	15,98

Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas urinarias de la Serie VI, antes del comienzo de la intoxicación.

TABLA XXXI

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	27,75	6,45	-----	Tr.	65,80	8,93
2	16,65	3,07	Tr.	2,29	77,99	3,78
3	13,53	3,96	Tr.	Tr.	82,51	4,58
4	18,15	5,56	2,22	Tr.	74,07	6,98
5	18,79	10,43	3,84	Tr.	66,94	13,48
	-----	-----	-----	-----	-----	-----
$\bar{x}$ =	18,98	5,89	1,21	0,46	73,46	7,55
D.S. =	5,31	2,86	1,75	1,02	7,14	3,89

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias -  
de la Serie VI tras 15 días de Inferón.

TABLA XXXII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	21,69	6,02	Tr.	----	72,29	7,69
2	16,76	5,74	1,03	2,94	73,53	7,24
3	21,89	8,50	2,05	1,42	66,14	11,39
4	24,02	4,34	Tr.	2,19	69,45	5,88
5	22,40	4,13	0,78	3,93	68,76	5,67
<hr/>						
$\bar{x}$ =	21,35	5,75	0,77	2,10	70,03	7,57
D.S. =	2,73	1,75	0,85	1,49	2,93	2,30

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VI a las 4 semanas del comienzo de la intoxicación - por HCB.

TABLA XXXIII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
2	70,77	10,85	2,24	1,67	14,47	42,85
3	67,03	15,27	0,91	1,64	15,15	50,20
4	60,47	18,70	5,28	4,37	11,18	62,58
5	75,33	13,87	4,33	3,15	3,22	80,69
	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>
$\bar{x}$ =	68,40	14,67	3,19	2,71	11,03	59,08
D.S. =	6,28	3,26	1,98	1,31	5,42	16,55



Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VI a las 6 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XXXIV

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
2	63,89	16,67	4,44	5,12	9,88	62,79
3	63,12	14,68	4,57	4,86	12,67	53,81
4	67,18	14,49	4,31	4,72	9,30	60,91
5	70,98	13,93	3,02	3,37	8,70	61,56
$\bar{x}$	= 66,29	14,97	4,08	4,52	10,14	59,78
D.S.	= 3,59	1,19	0,72	0,78	1,76	4,03

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias  
de la Serie VI a las 8 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XXXV

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
2	77,16	15,67	3,20	1,18	2,79	84,89
3	69,00	16,45	2,36	0,97	13,02	52,95
4	72,42	17,63	3,27	2,06	4,62	79,24
5	65,84	16,04	5,41	2,61	10,10	61,36
$\bar{x}$	= 71,11	16,00	3,56	1,70	7,63	69,61
D.S.	= 4,85	1,24	1,30	0,77	4,75	14,96

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias  
de la Serie VI a las 12 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XXXVI

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
2	65,47	16,50	3,87	2,20	11,92	57,98
3	61,85	12,31	2,31	2,44	21,09	36,88
4	74,36	19,67	2,46	0,89	2,62	82,25
5	63,44	17,33	5,88	2,42	11,03	61,11
<hr/>						
$\bar{x}$	= 66,28	16,45	3,62	1,98	11,67	61,06
D.S.	= 5,59	3,07	1,66	0,74	7,55	21,08

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VI a las 14 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XXXVII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
2	62,09	18,68	5,71	3,81	9,71	65,80
3	27,90	12,30	6,49	6,04	42,27	20,65
4	58,22	25,89	3,35	2,38	10,12	71,90
5	56,91	16,05	6,77	3,59	16,68	49,04
	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>	<u>      </u>
$\bar{x}$	= 63,41	18,89	4,32	2,69	10,69	64,31
D.S.	= 8,95	4,93	2,40	1,30	4,35	10,51

Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas urinarias de la Serie VII antes del comienzo de la intoxicación.

TABLA XXXVIII

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	4 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	8,85	6,80	0,68	2,04	81,63	7,69
2	14,32	8,37	1,98	2,64	72,69	10,33
3	4,51	5,91	0,62	1,87	87,09	6,35
4	17,06	6,07	2,34	6,77	67,76	8,22
6	11,32	10,61	3,18	4,07	70,79	13,03
7	6,88	12,50	Tr.	3,54	77,08	13,95
$\bar{x}$	= 10,49	8,38	1,47	3,49	76,17	9,93
D.S.	= 4,28	2,43	1,10	1,65	6,64	2,78

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias  
tras 15 día de Inferón.

TABLA XXXIX

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	6,40	3,60	1,20	0,80	88,00	3,93
2	10,14	4,97	2,48	1,66	80,75	5,80
3	10,33	5,03	1,96	7,26	75,42	6,25
4	13,60	3,58	1,19	0,48	81,15	4,23
6	5,30	0,40	Tr.	0,60	93,69	0,43
7	2,16	4,53	1,29	3,66	88,36	4,88
	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>	<hr/>
$\bar{x}$	= 7,99	3,69	1,35	2,41	84,56	4,25
D.S.	= 3,76	1,56	0,77	2,42	6,06	1,90

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII, a la 1ª semana de intoxicación por HCB.

TABLA XL

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	13,33	6,55	0,47	5,38	74,27	8,16
2	10,61	5,60	1,24	5,80	76,75	6,80
3	20,23	7,28	2,47	11,79	58,23	11,11
4	12,20	8,44	1,69	4,50	73,17	10,34
6	5,73	4,02	1,55	3,56	85,14	4,51
7	6,55	2,98	Tr.	4,17	86,30	3,34
$\bar{x}$	= 11,44	5,81	1,24	5,87	75,64	7,37
D.S.	= 4,81	1,87	0,80	2,74	9,30	2,82

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII a las 2 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLI

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	14,36	9,21	3,12	10,98	62,33	12,87
2	14,51	4,35	0,65	2,26	78,23	5,27
3	15,38	6,64	Tr.	11,06	66,92	9,03
4	15,31	5,16	0,63	7,81	71,09	6,77
6	3,75	3,53	0,62	4,74	87,32	3,89
7	9,68	6,26	0,83	1,77	81,46	7,14
<hr/>						
$\bar{x}$	= 12,17	5,86	0,98	6,44	74,56	7,50
D.S.	= 4,21	1,83	0,98	3,78	8,58	2,86



Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII a las 3 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLII

Nº	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	5,19	2,48	Tr.	2,04	90,29	2,67
2	20,11	3,18	0,88	1,76	74,07	4,12
3	34,94	7,10	Tr.	3,07	54,89	11,45
4	6,03	2,55	0,93	2,32	88,17	2,81
6	10,56	3,33	0,98	0,98	84,15	3,81
7	2,22	0,28	0,00	0,55	96,95	0,29
$\bar{x}$	= 13,18	3,15	0,47	1,79	81,42	4,19
D.S.	= 11,27	2,03	0,45	0,83	13,72	3,47

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII a las 4 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLIII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>IPCT</u>
1	3,21	5,43	2,71	8,40	80,25	6,34
2	20,55	11,66	10,10	9,61	48,08	19,52
3	47,15	14,85	5,79	5,44	26,77	35,68
4	15,94	7,84	3,40	7,51	65,31	10,72
6	28,30	9,49	3,82	6,27	52,12	15,40
7	18,13	11,57	4,48	9,94	58,59	16,26
<hr/>						
$\bar{x}$ =	22,21	10,14	5,05	7,53	55,35	17,32
D.S. =	13,41	3,01	2,45	1,35	16,42	9,22

Ratas porfíricas por HCB:TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII a las 5 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLIV

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	44,20	13,76	6,10	2,71	33,23	29,28
2	49,22	10,97	3,27	3,32	33,22	24,82
3	40,09	12,29	6,17	11,41	30,04	29,03
4	43,29	11,37	4,25	6,97	34,12	24,99
6	32,60	9,81	3,59	6,35	47,65	17,07
7	40,18	21,30	2,84	4,35	31,33	40,47
<hr/>						
$\bar{x}$	= 41,60	13,25	4,37	5,85	34,93	27,61
D.S.	= 5,02	3,79	1,31	2,91	5,85	7,02

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias  
de la Serie VII a las 6 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLV

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	43,00	12,00	2,73	6,82	35,45	25,29
2	55,16	10,82	3,96	7,60	22,46	32,51
3	48,95	10,39	3,73	7,71	29,22	26,23
4	64,50	12,42	2,86	4,84	15,38	44,68
6	38,35	12,78	1,88	7,52	39,47	24,46
7	52,79	11,40	2,40	7,21	26,20	30,32
<hr/>						
$\bar{x}$ =	50,46	11,64	2,92	6,95	28,03	30,58
D.S. =	8,44	0,78	0,71	0,98	7,97	6,92

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII a las 7 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLVI

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	41,87	12,22	5,53	11,59	28,79	29,80
2	48,55	12,50	6,10	12,50	20,35	38,05
3	60,14	18,30	5,29	6,68	9,59	65,61
4	56,26	13,68	4,81	6,63	18,62	42,35
6	59,37	15,08	3,38	8,19	13,98	51,89
7	66,19	13,54	2,71	6,80	10,76	55,72
$\bar{x}$	= 55,40	14,22	4,64	8,73	17,02	47,24
D.S.	= 7,99	2,04	1,19	2,42	6,51	11,84

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII a las 9 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLVII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	49,90	15,97	9,98	9,18	14,97	51,62
2	43,18	13,65	6,98	11,15	24,94	35,54
3	57,56	16,29	6,20	5,70	14,25	53,34
4	53,04	14,32	6,77	8,51	17,36	45,20
6	45,66	12,80	6,28	11,11	24,15	34,64
7	56,62	14,63	8,71	10,14	9,90	54,64
$\bar{x}$	= 50,99	14,61	7,49	9,30	17,60	45,83
D.S.	= 5,34	1,22	1,37	1,86	5,37	8,15

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas urinarias de la Serie VII a las 11 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA XLVIII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	45,81	17,83	10,53	9,62	16,21	52,38
2	55,20	15,34	6,26	4,03	19,17	44,45
3	51,36	15,75	8,79	8,79	15,31	50,71
4	61,60	13,86	5,26	8,52	10,76	56,29
6	68,84	13,20	1,58	2,29	14,09	48,39
7	56,55	20,17	7,79	4,60	10,49	65,78
<hr/>						
$\bar{x}$ =	56,56	16,03	6,70	6,31	14,34	53,00
D.S. =	7,31	2,33	2,85	2,77	3,03	6,75

7.2.4. Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas fecales de -- las Series I y II, al final de la intoxicación. Valores expresados en % del total de porfirinas.

TABLA XLIX

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
18	2,70	1,80	0,70	4,50	8,60	17,90	63,80
21	9,80	5,70	0,50	7,50	0,00	28,90	47,60
27	8,50	5,10	5,30	0,00	0,00	20,20	60,90
28	2,80	5,60	12,20	10,40	0,00	34,80	34,20
1	2,30	1,40	0,30	2,90	4,20	21,70	67,10
2	4,80	11,40	5,80	11,60	12,80	9,90	42,80
5	7,50	3,60	1,40	1,40	0,80	13,90	71,40
6	7,80	3,20	0,00	3,70	2,60	27,40	55,30



Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas fecales de las Series III, IV y V en las primeras etapas de intoxicación. Valores expresados en % del total de porfirinas.

TABLA L

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH
2	0,48	Tr.	0,42	19,62	0,00	23,92	55,56
3	0,71	1,02	0,58	15,85	0,00	21,98	59,86
4	0,28	Tr.	0,25	24,83	7,78	23,35	43,51
5	Tr.	Tr.	0,00	17,40	0,00	20,80	61,80
1	1,07	Tr.	0,00	61,37	0,00	13,12	24,44
2	0,93	0,00	0,00	53,21	0,00	11,82	34,04
3	1,93	Tr.	0,76	57,78	0,00	8,89	30,64
5	1,54	Tr.	Tr.	29,86	1,16	6,55	60,89
1	2,04	1,85	1,24	13,53	3,09	24,71	53,54
2	0,90	4,29	4,41	7,12	12,99	25,99	44,30
5	5,42	3,04	1,93	13,65	5,56	23,74	46,66
6	1,07	1,00	0,47	19,21	Tr.	26,02	52,23
7	3,64	10,04	3,46	16,34	Tr.	16,82	49,65
8	1,77	1,66	1,44	19,14	Tr.	18,81	57,19
9	1,90	2,74	1,55	15,12	Tr.	23,81	54,88
10	5,39	5,67	4,91	14,81	4,73	18,90	46,22

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de las Series III, IV y V, en las últimas etapas de intoxicación. Valores expresados en % del total de Porfirinas.

TABLA LI

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH
2	6,45	5,92	4,28	20,39	1,32	14,80	46,84
5	1,01	Tr.	2,09	29,11	0,00	10,76	57,03
1	27,19	18,47	12,07	6,56	1,05	4,25	30,41
2	8,09	7,42	6,29	13,05	1,46	12,50	51,19
3	13,29	11,22	8,27	15,89	2,30	8,63	40,40
5	1,39	1,11	0,94	14,50	Tr.	26,19	55,87
1	5,23	4,80	4,16	6,72	14,94	22,41	41,74
2	3,35	3,86	2,64	6,40	14,21	21,32	48,22
5	13,49	13,80	10,79	10,61	6,74	12,88	31,69
6	3,99	2,49	2,16	16,28	1,66	19,93	53,49
7	8,80	8,05	5,58	17,27	5,36	17,17	37,77
8	5,91	3,94	4,05	16,08	5,19	15,56	49,27
9	5,55	5,04	3,36	11,60	5,44	17,65	51,76
10	5,88	5,40	4,68	13,79	7,79	15,59	46,87

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VI antes del comienzo de la intoxicación

TABLA LII

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	4 COOH	2 COOH	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	0,54	0,37	0,23	3,10	20,07	75,69	1,81
2	0,37	0,49	0,00	5,78	17,11	76,25	2,78
3	0,49	0,61	0,39	3,42	21,55	73,54	2,75
4	0,73	0,32	Tr.	5,37	21,17	72,41	1,49
5	0,15	0,56	0,00	3,07	24,74	71,48	2,21
<hr/>							
$\bar{x}$ =	0,46	0,47	0,12	4,15	20,93	73,87	2,21
D.S.=	0,21	0,12	0,18	1,32	2,75	2,06	0,57

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VI, tras 15 días de Inferón.

TABLA LIII

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	0,00	0,00	0,34	4,49	19,96	75,21	0,00
2	3,93	1,34	0,47	3,57	22,46	68,23	5,63
3	0,00	0,00	0,25	4,22	17,63	77,90	0,00
4	Tr.	1,22	0,60	1,94	22,42	73,92	4,76
5	1,27	0,19	0,56	4,02	15,69	78,27	1,20
<hr/>							
$\bar{x}$ =	1,04	0,53	0,44	3,65	19,63	74,71	2,32
D.S.=	1,71	0,65	0,15	1,01	2,98	4,05	2,69

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VI, a las 4 semanas de intoxicación por HCB.

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
2	26,34	21,90	11,12	3,57	9,63	7,15	20,29	81,51
3	6,56	7,42	3,22	7,11	15,47	13,61	46,61	62,71
4	15,53	16,25	7,25	6,80	10,51	8,86	34,80	75,13
5	17,37	17,38	8,72	5,27	8,23	9,45	33,58	73,05
$\bar{x}$	= 16,45	15,74	7,58	5,68	10,96	9,77	33,82	73,10
D.S.=	8,11	6,06	3,31	1,62	3,15	2,74	10,77	7,81

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VI, a las 6 semanas de intoxicación por HCB.

Tabla LV

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>2 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
2	25,50	21,13	12,20	7,02	4,41	3,55	26,19	84,84
3	28,81	20,77	9,77	8,44	5,67	4,67	25,87	81,77
4	30,42	22,59	14,09	6,94	3,01	4,49	18,46	90,90
5	31,92	23,24	14,80	5,13	3,20	2,35	18,86	89,07
$\bar{x}$	= 29,16	21,93	12,72	6,88	4,07	3,89	21,35	86,65
D.S.=	2,75	1,17	2,25	1,36	1,23	0,85	3,57	4,12

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VI, a las 8 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LVI

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>2 COOH</u>	<u>IP<sub>PCT</sub></u>
2	27,15	18,10	12,33	7,61	2,16	6,18	26,47	91,83
3	24,20	18,41	13,93	8,70	2,71	4,57	27,48	89,45
4	27,93	25,56	15,33	6,27	1,84	4,04	19,03	93,29
5	28,01	22,46	12,48	5,20	1,76	3,31	26,78	93,61
<hr/>								
$\bar{x}$	= 26,82	20,14	13,52	6,95	2,12	4,52	25,93	92,05
Dis.=	1,79	2,21	1,41	1,53	0,43	1,22	1,98	1,90

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VI, a las 12 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LVII

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	4 COOH	P <sub>1</sub>	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
2	26,60	17,77	13,23	7,07	1,58	6,32	27,43	93,84
3	23,78	20,99	12,65	8,68	3,89	3,89	26,12	86,48
4	19,13	18,71	15,27	8,25	3,81	2,86	31,97	88,73
5	18,56	18,59	14,79	7,28	5,94	2,53	32,31	90,65
$\bar{x}$	= 22,02	19,01	13,98	7,82	4,99	2,72	29,46	89,93
D.S.=	3,85	1,38	1,25	0,77	1,33	0,95	3,15	3,12



Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VI, a las 14 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LVIII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>2 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
2	17,93	17,82	15,55	8,88	2,03	3,86	33,93	91,44
3	21,67	22,17	16,01	11,92	2,96	4,93	20,34	90,15
4	21,84	22,31	16,63	7,71	2,53	4,91	24,07	91,50
5	17,58	22,40	16,93	7,43	2,22	4,44	29,00	92,36
$\bar{x}$	= 19,00	20,76	15,91	8,58	2,44	4,27	29,04	91,10
D.S.=	1,95	2,14	1,09	1,31	0,41	0,51	4,03	1,40

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, antes del comienzo de la Intoxicación.

TABLA LIX

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4COOH</u>	<u>2 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	1,21	Tr.	0,21	4,26	0,00	19,46	74,86	0,00
2	1,21	0,11	0,53	2,07	0,00	16,42	79,66	0,67
3	0,14	0,20	0,36	3,19	0,00	17,60	78,51	1,12
4	0,55	0,18	0,37	3,67	0,00	18,11	77,12	0,98
6	2,63	0,58	Tr.	1,48	Tr.	10,27	85,04	5,35
7	1,44	0,16	0,06	1,93	0,00	12,71	83,70	1,24
$\bar{x}$ =	1,20	0,21	0,26	2,77	0,00	15,76		1,56
D.S. =	0,77	0,20	0,17	1,00	0,00	3,23		1,74

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, tras 15 días de Inferón.

TABLA LX

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COCH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	0,68	0,00	0,00	0,77	0,00	9,65	88,90	0,00
2	3,35	0,91	0,00	1,47	0,00	8,54	85,73	9,63
3	3,20	0,54	0,87	1,54	0,00	11,35	82,50	4,54
4	4,97	0,34	0,18	0,73	0,00	8,55	85,23	3,82
6	Tr.	Tr.	Tr.	2,33	Tr.	12,10	85,57	0,00
7	2,13	0,34	Tr.	1,90	Tr.	16,42	79,21	2,03
$\bar{x}$ =	2,39	0,36	0,18	1,46	0,00	11,10	84,52	3,34
D.S. =	1,67	0,31	0,31	0,56	0,00	2,73	3,10	3,29

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a 1 semana de intoxicación por HCB.

TABLA LXI

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	1,11	0,29	0,38	3,90	2,41	16,88	75,03	13,79
2	1,46	0,25	0,07	3,70	1,50	25,16	67,86	6,50
3	0,38	0,09	0,00	2,51	0,46	14,55	82,07	3,64
4	0,68	0,30	Tr.	2,82	1,97	14,11	80,11	13,86
6	2,63	1,07	0,64	4,12	1,21	14,21	76,12	13,86
7	0,96	0,72	0,24	4,98	0,72	12,94	79,44	10,01
$\bar{x}$	= 1,20	0,45	0,22	3,67	1,38	16,31	76,77	10,28
D.S.=	0,72	0,34	0,22	0,82	0,67	4,12	4,67	4,00

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a las dos semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LXII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	0,42	0,20	0,43	3,97	6,23	21,30	67,45	23,19
2	0,16	0,16	0,15	2,39	4,04	10,26	82,84	29,05
3	0,24,	0,09	0,18	2,12	2,77	13,15	81,45	17,86
4	0,16	0,58	0,54	3,87	4,64	16,96	73,25	23,53
6	0,20	0,37	0,82	5,17	7,74	19,72	65,98	29,14
7	0,27	0,44	0,81	3,97	7,42	20,98	66,12	27,23
$\bar{x}$ =	0,24	0,31	0,49	3,58	5,47	17,06	72,85	25,00
D.S.=	0,10	0,17	0,26	1,04	1,80	4,12	7,00	3,97

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a las 3 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LXIII

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	0,86	0,39	0,42	5,40	7,04	26,59	59,33	21,77
2	0,57	0,24	0,33	7,05	12,23	33,43	46,15	27,17
3	0,77	0,37	0,43	3,85	5,68	18,39	70,51	24,75
4	1,03	1,09	0,56	5,41	9,07	21,88	60,96	31,71
6	0,98	0,83	0,39	6,23	10,54	19,61	61,42	36,70
7	0,68	0,40	0,17	6,19	12,78	21,19	58,59	38,35
$\bar{x}$ =	0,82	0,55	0,38	5,69	9,56	23,52	59,49	30,08
D.S.=	0,14	0,31	0,14	0,98	2,57	5,09	7,17	6,04

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a las 4 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LXIV

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	1,78	1,73	1,78	5,25	2,10	18,70	68,66	17,00
2	4,59	5,78	3,85	7,68	8,22	17,97	51,91	43,79
3	3,94	5,19	3,66	6,04	2,62	11,87	66,68	39,68
4	2,47	3,80	2,97	7,37	3,66	17,16	62,57	30,30
6	5,30	7,47	5,30	5,98	2,72	12,23	61,00	45,45
7	3,96	3,86	1,73	3,63	2,62	13,60	70,60	32,27
$\bar{x}$ =	3,67	4,64	3,22	5,99	3,66	15,26	63,57	34,75
D.S.=	1,21	1,79	1,22	1,35	2,08	2,74	6,17	9,66

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a las 5 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LXV

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	9,76	8,15	5,30	5,32	8,96	14,94	47,57	53,39
2	14,81	11,47	4,35	4,68	8,60	10,99	45,10	64,62
3	18,40	16,42	9,78	7,49	7,18	7,18	33,55	76,67
4	7,98	8,31	6,58	5,99	4,56	11,07	55,51	53,76
6	14,75	14,51	9,30	7,26	4,84	10,10	39,24	65,70
7	14,17	13,53	9,63	7,41	5,15	17,07	33,04	52,25
<hr/>								
$\bar{x}$	= 13,31	12,07	7,49	6,36	6,55	11,89	42,34	61,07
D.S.=	3,46	3,05	2,18	1,08	1,78	3,24	7,94	8,79



Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a las 6 semanas de intoxicación por HCB.

TABLALXVI

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	14,94	14,89	11,13	9,80	7,89	10,82	30,53	67,80
2	18,96	17,05	9,62	10,95	10,84	8,46	24,12	76,73
3	13,60	19,77	16,27	10,98	11,42	7,47	20,49	80,68
4	14,24	18,58	13,01	11,00	9,29	10,93	22,95	71,83
6	13,45	13,55	11,34	11,46	13,24	10,90	26,06	71,08
7	16,18	15,57	9,68	8,57	12,41	7,22	30,37	79,49
$\bar{x}$	= 15,23	16,57	11,84	10,46	10,85	9,30	25,75	74,60
D.S.=	1,88	2,12	2,29	0,98	1,80	1,62	3,73	4,71

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a las 7 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LXVII

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>	<u>I<sub>PCT</sub></u>
1	14,63	16,82	11,98	9,73	7,99	7,74	31,11	76,22
2	17,44	18,23	12,53	10,85	12,99	5,87	22,09	83,95
3	15,55	18,06	13,10	7,84	9,54	3,78	32,13	87,95
4	15,47	17,19	10,92	9,06	8,42	6,63	32,31	79,44
6	11,11	15,29	13,50	9,45	10,02	8,05	32,58	75,87
7	13,56	18,20	16,70	10,75	8,09	4,52	27,98	85,33
$\bar{x}$	= 14,63	17,30	13,12	9,61	9,51	6,10	29,70	81,46
D.S.=	1,93	1,01	1,81	1,05	1,71	1,55	3,73	4,58

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de la Serie VII, a las 9 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LXVIII

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	12,22	14,35	14,51	9,53	9,88	5,10	27,41	82,61
2	18,08	18,48	16,42	11,33	14,47	4,93	16,29	86,99
3	11,83	17,73	16,86	8,77	8,01	2,64	34,13	90,60
4	15,95	16,55	12,06	7,92	5,77	4,01	37,75	84,77
6	16,43	19,39	16,57	10,72	7,98	4,18	24,76	86,75
7	13,70	20,42	18,75	9,21	8,01	3,60	26,31	88,76
$\bar{x}$	=14,70	17,82	15,86	9,58	9,02	4,08	27,78	86,75
D .S.	2,29	1,97	2,11	1,14	2,71	0,82	6,84	2,46

Ratas porfíricas por HCB: TLC de las porfirinas fecales de Serie VII, a las 11 semanas de intoxicación por HCB.

TABLA LXIX

Nº	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH	I <sub>PCT</sub>
1	16,09	25,41	17,84	9,09	8,47	3,39	19,71	90,90
2	16,94	20,34	14,73	5,42	9,45	3,15	29,97	90,44
3	19,06	21,93	17,84	7,72	4,68	2,92	25,85	90,11
4	11,77	22,36	18,03	9,67	6,31	3,15	28,71	90,10
6	13,38	20,55	19,84	10,33	9,20	4,31	22,39	87,35
7	21,09	24,68	19,18	6,68	5,16	3,19	19,92	90,34
$\bar{x}$	= 16,39	22,55	17,91	8,15	7,21	3,35	24,43	89,87
D.S.=	3,15	1,85	1,60	1,72	1,92	0,46	4,00	1,39

7.2.5. Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en Capa fina (TLC) de las porfirinas hepáticas. Valores expresados en % del total de Porfirinas.

TABLA LXX  
SERIE I

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
2	68,50	27,00	0,00	0,00	0,00	4,50
3	66,70	23,80	0,00	0,00	1,90	7,60
5	68,00	26,20	0,00	0,00	0,00	5,80
6	55,60	36,40	3,30	0,00	0,00	4,70
7	67,60	25,50	0,00	0,00	0,70	6,20
9	53,60	28,60	2,10	0,00	0,00	15,70
10	32,80	14,70	0,00	0,00	9,80	42,70
14	55,50	41,60	0,00	1,10	0,00	1,80
15	63,50	34,60	1,90	0,00	0,00	0,00
16	66,10	33,90	0,00	0,00	0,00	0,00
17	68,90	31,10	0,00	0,00	0,00	0,00
18	41,90	18,90	0,00	1,60	37,80	0,00

Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en Capa Fina (TLC) de las porfirinas hepáticas. Valores expresados en % del total de Porphirinas.

TABLA LXXI  
SERIE II

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
1	50,40	25,20	0,00	1,50	22,90	0,00
2	81,80	5,20	0,00	5,10	7,80	0,00
3	48,20	27,10	2,30	4,10	18,30	0,00
4	50,00	6,60	1,60	8,20	42,60	0,00
5	31,60	22,40	Tr.	Tr.	7,90	38,10
6	50,60	44,30	1,90	0,00	0,00	3,20

Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas hepáticas. Valores expresados en % del total de Porphirinas.

TABLA LXXII

SERIE III

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
2	66,84	28,80	0,00	0,00	4,36	0,00
3	49,71	23,58	Tr.	0,00	1,96	24,75
4	67,70	30,10	0,53	0,00	1,50	0,00
5	73,30	26,70	0,00	0,00	Tr.	Tr.
6	78,16	10,46	0,00	0,00	6,20	5,18
7	66,46	20,38	0,00	0,00	Tr.	13,16
8	53,60	34,37	Tr.	0,00	9,94	2,09
10	74,31	22,26	Tr.	0,00	3,43	Tr.

Ratas porfíricas por HCB: Fraccionamiento mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas hepáticas. Valores expresados en % del total de porfirinas.

TABLA LXXIII

SERIE IV

<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
1	62,81	37,19	0,00	0,00	0,00	0,00
2	60,82	39,18	0,00	0,00	0,00	0,00
5	65,31	34,01	0,68	0,00	0,00	0,00
6	58,36	37,33	0,61	Tr.	3,90	0,00
7	53,78	32,24	3,54	1,89	8,55	0,00
8	60,84	35,10	2,16	0,23	1,67	0,00
9	50,36	28,47	0,00	0,00	21,17	0,00
10	94,42	5,58	0,00	0,00	0,00	0,00



Ratas porfíricas por HCB: Estudio cuantitativo mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas hepáticas. Valores expresados  $\mu\text{g/g}$  de tejido fresco.

TABLA LXXIV  
SERIE V

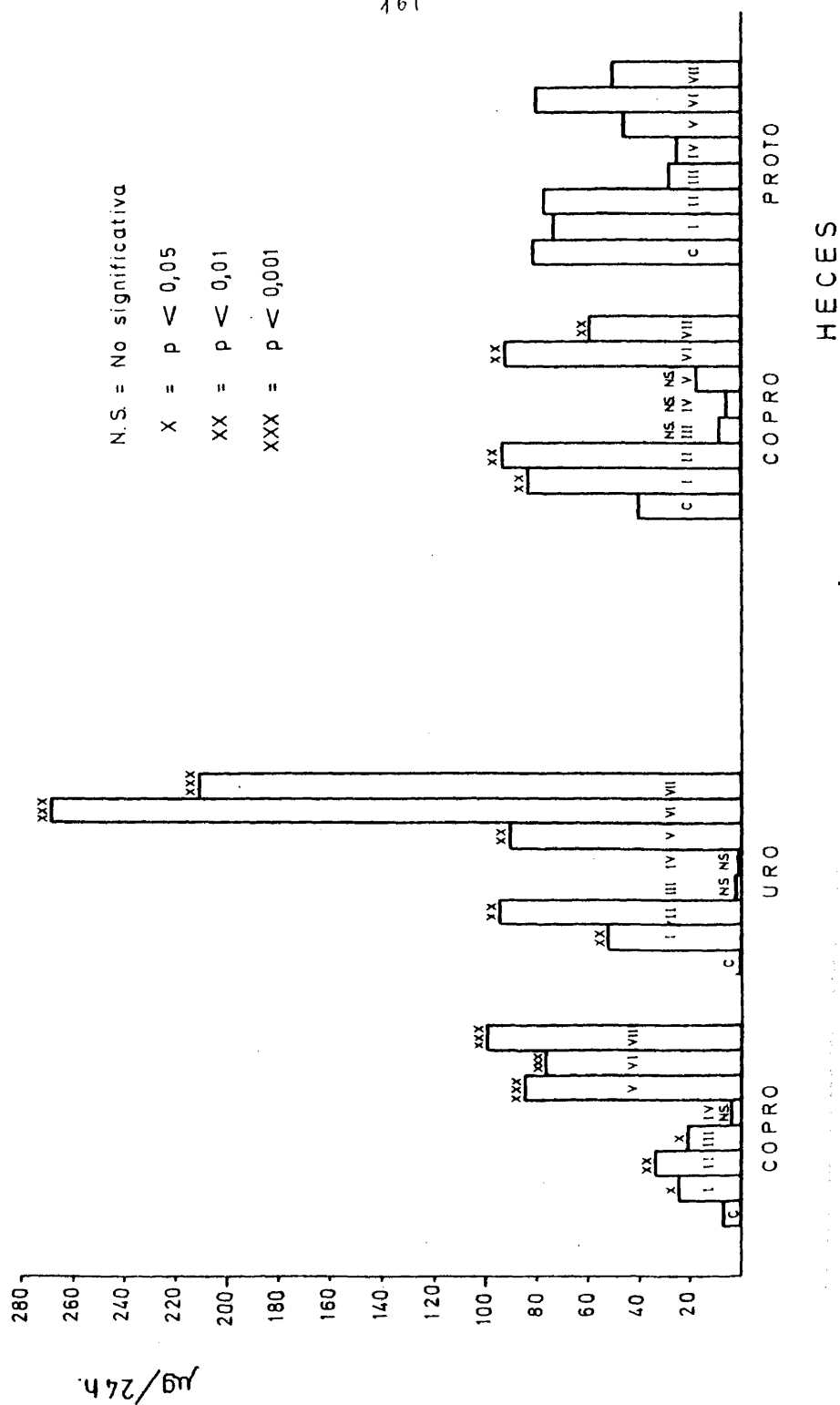
<u>Nº</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
1	45,00	11,22	0,00	0,00	0,00	0,00
2	66,00	26,40	0,00	0,00	0,00	0,00
3	42,60	27,25	0,30	Tr.	2,85	0,00
6	32,70	19,60	2,15	1,15	5,20	0,00
7	93,00	53,65	3,30	0,35	2,55	0,00
8	0,35	0,19	0,00	0,00	0,14	0,00
9	0,59	0,35	0,00	0,00	0,00	0,00
10	50,22	23,10	0,00	0,00	0,00	0,00

REPARTO PORCENTUAL DE CARBOXIL-PORFIRINAS EN ALGUNAS RATAS DE LAS SERIES I, II, III Y  
IV Y V. Valores medios y (Desviación standard)

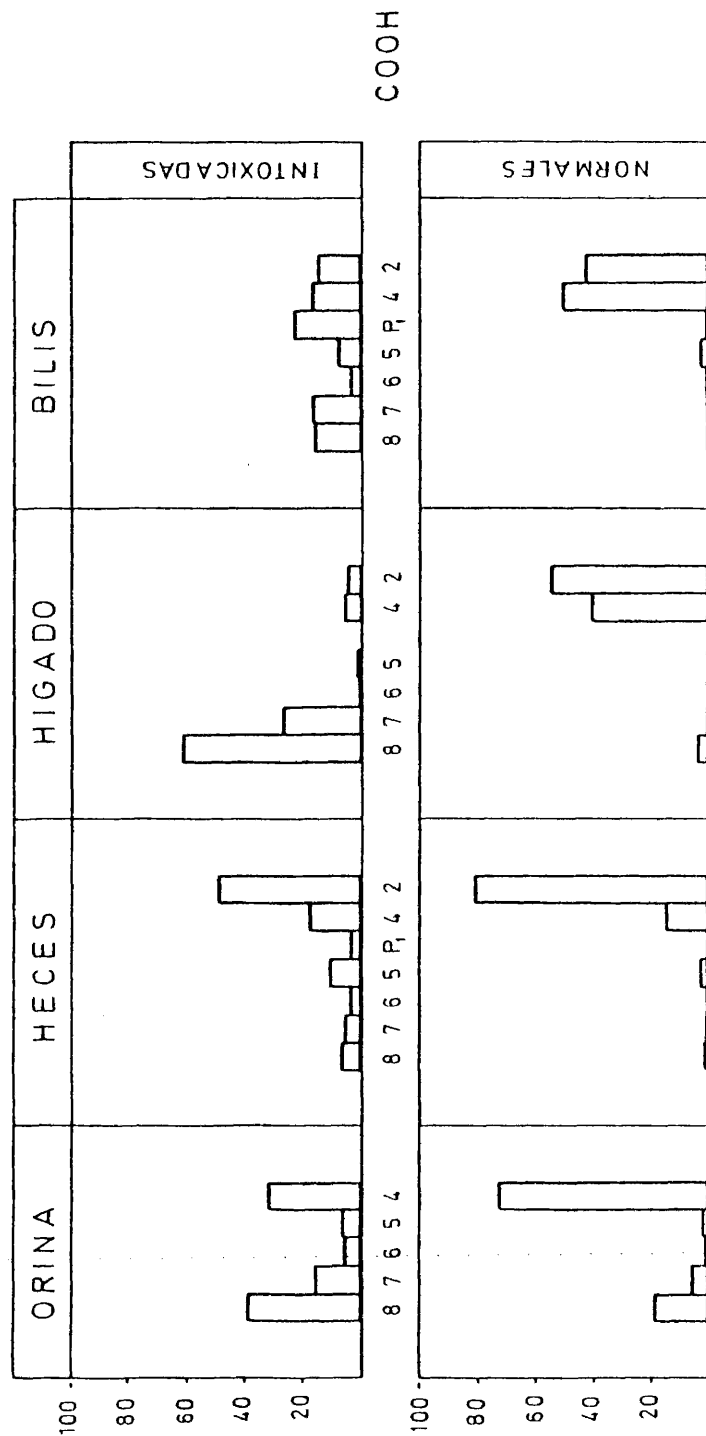
TABLA LXXIV

ESPECIMEN	RATAS	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	4 COOH	P	2 COOH
ORINA	Intoxicadas	38,82 (18,76)	16,26 (11,14)	5,75 (6,26)	6,91 (5,58)	32,28 (20,25)		
	Controles	18,72 (4,12)	5,79 (1,92)	1,03 (0,96)	1,67 (1,35)	72,79 (4,71)		
HECES	Intoxicadas	7,08 (5,50)	5,88 (4,34)	4,43 (3,60)	10,92 (6,75)	17,92 (7,08)	4,38 (4,62)	49,36 (15,58)
	Controles	0,69 (0,90)	0,32 (0,37)	0,21 (0,20)	2,56 (1,67)	15,00 (7,34)		81,22 (8,95)
HIGADO	Intoxicadas	60,53 (12,99)	27,03 (9,93)	0,61 (1,05)	0,70 (1,77)	6,03 (10,61)		5,10 (10,47)
	Controles	2,84 (2,42)				41,31 (5,84)		54,85 (5,30)
BILIS	Intoxicadas	15,58 (14,32)	17,37 (10,40)	4,41 (0,17)	7,82 (4,65)	16,90 (14,88)	23,20 (16,06)	14,72 (14,04)
	Controles	0,42 (0,72)	0,18 (0,25)	0,23 (0,39)	2,92 (1,69)	51,33 (7,92)	0,80 (0,82)	42,87 (7,77)

# Excreción media de fracciones porfiricas en las diversas series



# Reparto porcentual de las carboxil porfirinas en algunas ratas de las series I-V en comparacion con ratas normales



RATAS PORFIRICAS POR HCB: Estudio cuantitativo mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas contenidas en diversas vísceras. Valores expresados en  $\mu\text{g/g}$  o ml.

TABLA LXXVI

SERIE VI

Nº	ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P	4 COOH	2 COOH
						1		
2	Pulmón	2,39	2,84					
	Hígado	650,00	287,80	7,43				
	Riñón	29,43	8,45				0,13	
	Bazo	3,09	1,70					
	Bilis	12,21	5,51	0,96	0,41	1,57	0,20	Tr.
3	Pulmón	0,88	0,60	0,04			0,19	0,06
	Hígado	160,08	71,47	0,57	0,83		1,66	0,62
	Riñón	11,28	1,68	0,10	Tr.		1,74	
	Bazo	1,10	0,47	0,63				
	Bilis	37,09	24,11	3,34	1,75	17,60	1,89	0,51

TABLA LXXVI (Continuación)

Nº	ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P	4 COOH	2 COOH
						1		
4	Pulmón	3,98	5,21	0,12	0,02		0,06	0,12
	Hígado	519,42	263,92	5,11				
	Riñón	31,52	9,23	0,31	Tr.		0,74	
	Bazo	10,19	4,47	0,27	0,07		0,21	0,11
5	Pulmón	2,82	4,34	0,05	0,02		0,04	0,04
	Hígado	478,13	233,75	5,31			Tr.	
	Riñón	44,83	10,34	0,26	0,05		2,61	
	Bazo	5,65	2,99	0,33	0,45	0,30	1,01	0,06
	Bilis	9,37	4,21	0,86	0,46	2,55	0,13	0,27

RATAS PORFIRICAS POR HCB: Estudio cuantitativo mediante Cromatografía en capa fina (TLC) de las porfirinas contenidas en las diversas vísceras. Valores expresados en  $\mu\text{g/g}$  o ml.

TABLA LXXVII

SERIE VII

Nº	ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH
1	Hígado	139,73	80,40	3,21				
	Pulmón	0,21	0,08					
	Bazo	0,40	0,10	Tr.			0,05	Tr.
	Riñón	1,65	0,40	0,03	0,02		0,06	
	Bilis	3,42	6,62	4,91	1,82	5,57	0,36	0,15
2	Hígado	82,34	32,22	1,43				
	Pulmón	0,24	0,18	0,07	Tr.		0,02	Tr.
	Bazo	0,42	0,18	0,04	Tr.		Tr.	
	Riñón	5,26	2,49	0,15	0,13		0,17	
	Bilis	1,54	5,77	2,85	0,65	6,49	0,72	0,26

TABLA LXXVII (Continuación)

Nº	ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P	4 COOH	2 COOH
3	Hígado	150,23	57,78	1,98	.			
	Pulmón	1,48	1,02	0,02	0,01		0,03	0,04
	Bazo	4,35	0,95	0,05	0,01		0,54	0,17
	Riñón	12,43	6,22	0,50	0,11		0,36	
	Bilis	6,73	9,46	9,67	3,10	15,06	0,58	
4	Hígado	103,69	49,04	3,36				
	Pulmón	0,57	0,25	0,04	0,01		0,26	0,15
	Bazo	0,71	0,21	0,07			2,52	0,13
	Riñón	4,76	2,18	0,16	0,03		0,65	
	Bilis	2,19	5,38	5,55	6,03	7,62	1,15	



TABLA LXXVII (Continuación)

Nº	ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH
6	Hígado	180,93	70,80					
	Pulmón	1,51	0,53	Tr.			0,04	
	Bazo	0,88	0,16	Tr.			0,09	
	Riñón	11,41	4,23	0,34	0,35		0,70	
	Bilis	2,19	1,60	2,35	5,14	5,85	0,53	
7	Hígado	1151,77	562,80	13,09	6,54			
	Pulmón	0,00	0,00				0,00	
	Bazo	17,07	5,83	0,25	0,08		0,33	0,15
	Riñón	15,04	6,01	0,24	0,35		0,71	
	Bilis	6,63	6,87	5,40	1,69	5,54	0,43	0,10

REPARTO PORCENTUAL MEDIO EN DIVERSAS VISCERAS DE LAS RATAS DE LA SERIE VI; TRAS SU INTOXI

CACION

TABLA LXXVIII

ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH
Pulmón	45,70	54,30					
	41,85	54,79	1,26	0,21		0,63	1,26
	38,58	59,37	0,68	0,27		0,55	0,55
	49,72	33,90	2,26	0,00		10,73	3,39
$\bar{x}$	43,96	50,59	1,05	0,12		2,98	1,30
D.S. =	4,82	11,36	0,96	0,14		5,17	1,49
Bazo	64,51	35,49					
	66,51	29,18	1,76	0,46		1,37	0,72
	53,86	28,50	3,15	4,29		9,63	0,57
	50,00	21,36	28,64				
$\bar{x}$	58,72	28,63	8,39	1,19		2,75	0,32
D.S. =	8,04	5,78	13,56	2,08		4,63	0,38

TABLA LXXVIII (Continuación)

ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P 1	4 COOH	2 COOH
Riñón							
	76,22	11,35	0,67	Tr.		11,76	
	77,17	17,80	0,45	0,09		4,49	
	75,41	22,08	0,74	Tr.		1,77	
	77,43	22,23				0,34	
-							
x	76,56	18,36	0,47	0,02		4,59	
D.S.	0,93	5,11	0,33	0,04		5,08	
Hígado							
	68,76	30,45	0,79				
	65,87	33,48	0,65				
	66,67	32,59	0,74				
	68,06	30,38	0,24	0,35		0,71	0,26
-							
x	67,34	31,73	0,61	0,08		0,18	0,06
D.S.	1,31	1,56	0,25	0,17		0,35	0,13

TABLA LXXVIII (Continuación)

<u>ORGANO</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
Billis	42,98	27,94	3,87	2,03	20,40	2,19	0,59
	52,49	23,59	4,81	2,58	14,29	0,73	1,51
	58,53	26,41	4,60	1,97	7,53	0,96	
x	= 51,33	25,98	4,43	2,19	14,08	1,26	0,70
D.S.	= 7,84	2,21	0,49	0,34	6,44	0,78	0,76

REPARTO CUANTITATIVO MEDIO DE LAS PORFIRINAS CONTENIDAS EN LAS DIVERSAS VISCERAS DE LAS RATAS DE LA SERIE VII; TRAS SU INTOXICACION.

TABLA LXXIX

ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH
Pulmón	0,21	0,08	0,00	0,00		0,00	0,00
	0,24	0,18	0,07	0,00		0,02	0,00
	1,48	1,02	0,02	0,01		0,03	0,04
	0,57	0,25	0,04	0,01		0,26	0,15
	1,51	0,53	0,00	0,00		0,04	0,00
	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	0,00
$\bar{x}$	0,67	0,34	0,02	0		0,06	0,03
D.S.	0,60	0,34	0	0		0,10	0

TABLA LXXIX (Cont.)

ORGANO	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	P <sub>1</sub>	4 COOH	2 COOH
Bazo							
	0,40	0,10	0,00	0,00		0,05	0,00
	0,42	0,18	0,04	0,00		0,00	0,00
	4,35	0,95	0,05	0,01		0,54	0,17
	0,71	0,21	0,07	0,00		2,52	0,13
	0,88	0,16	0,00	0,00		0,09	0,00
	17,07	5,83	0,25	0,08		0,33	0,15
$\bar{x}$ =	3,97	1,24	0,07	0,02		0,59	0,08
D.S. =	6,01	2,07	0,10	0		0,88	0
Riñón							
	1,65	0,40	0,03	0,02		0,06	0,00
	5,26	2,49	0,15	0,13		0,17	0,00
	12,43	6,22	0,50	0,11		0,36	0,00
	4,76	2,18	0,16	0,03		0,65	0,00
	11,41	4,23	0,34	0,35		0,70	0,00
	15,04	6,01	0,24	0,35		0,71	0,00
$\bar{x}$ =	8,43	3,59	0,24	0,17		0,44	0
D.S. =	4,78	2,10	0,14	0,14		0,26	0

TABLA LXXIX (Cont.)

<u>ORGANO</u>	<u>8 COOH</u>	<u>7 COOH</u>	<u>6 COOH</u>	<u>5 COOH</u>	<u>P<sub>1</sub></u>	<u>4 COOH</u>	<u>2 COOH</u>
Hígado	180,93	70,80	0,00	0,00		0,00	0,00
	1151,77	562,80	13,09	6,54		0,00	0,00
	150,23	57,78	1,98	0,00		0,00	0,00
	103,69	49,04	3,36	0,00		0,00	0,00
	189,73	80,40	3,21	0,00		0,00	0,00
	82,34	32,22	1,43	0,00		0,00	0,00
$\bar{x}$ =	309,78	142,17	3,85	1,09		0	0
D.S. =	378,51	188,73	4,28	2,43		0	0
Billis	3,42	6,62	4,91	1,82	5,57	0,36	0,15
	1,54	5,77	2,85	0,65	6,49	0,72	0,26
	6,73	9,46	9,67	3,10	15,06	0,58	0,00
	2,19	5,38	5,55	6,03	7,62	1,15	0,00
	2,19	1,60	2,35	5,14	5,85	0,53	0,00
	6,63	6,87	5,40	1,69	5,54	0,43	0,10
$\bar{x}$ =	3,78	5,95	5,12	3,07	7,69	0,63	0,09
D.S. =	2,12	2,34	2,37	1,93	3,36	0,24	0,10

## V. COMENTARIOS



## 8. COMMENTARIES

De entre los 70 compuestos químicos que han mostrado - propiedades porfirinogenéticas destacan los hidrocarburos - halogenados cuyas características físico-químicas comunes - son su insolubilidad en agua, su naturaleza lipofílica, su estructura molecular plana o casi plana, y su diferente grado de halogenación. Son bien conocidos (114) por su amplio uso en la industria y la agricultura y por su presencia como contaminantes ambientales, pero ha sido el hexacloroben- ceno el más ampliamente estudiado a raíz de la "epidemia -- porfírica" que desencadenó en Turquía. La exposición cróni- ca a estos compuestos aromáticos polihalogenados da lugar a porfiria asociada a hepatopatía en el hombre, mono, rata, - conejo, pollo, ratón, y algunas especies de codorniz, pero por su manejabilidad ha sido esogida comunmente la rata co- mo animal modelo para el desarrollo de esta porfiria experi- mental.

La adición de HCB a la dieta en proporciones variables entre el 0,2% y el 0,3% (78) (1) constituye una de las - más clásicas pautas empleadas para la inducción porfírica. Así lo hicimos en nuestra serie I observando, al igual que les sucediera a Ockner y Schmid (78) y a Day y cols. (15) que un tercio de los animales (7 hembras y 3 machos) falle- cían dentro del primer mes de intoxicación. Goerz y cols. - (44) emplean una concentración de HCB del 0,05% y Day y -- cols. (15) del 0,07% con lo que la mortalidad puede quedar reducida a menos del 5%. San Martin de Viale y cols. (92) consiguieron también una baja mortalidad aministrando, por

sonda gástrica, el HCB (1000 mg/Kg/día) suspendido en agua con la ayuda de Tween 20. Efectivamente muy buenos resultados obtuvimos en nuestra Serie II al administrar durante 5 semanas muy bajas dosis del tóxico suspendido en suerogoma, pero el empleo de las grandes dosis recomendadas por San Martín de Viale y cols. (92) se tradujo en nuestra Serie III en una marcada y precoz mortalidad. Cuatro de los 10 animales fallecieron antes de cumplirse las 3 semanas de intoxicación que hubo de interrumpirse ante el alarmante deterioro general de las ratas, que mostraron irritabilidad, ataxia, temblores e incluso convulsiones.

En las siguientes series hemos vehiculado, como Doss y cols. (22), el HCB en aceite de oliva, ya que se ha descrito (62) que de esta forma su absorción intestinal puede llegar a ser del 80% mientras que en suspensión acuosa sólo alcanza el 5-6%.

Dos de los 5 animales hembras de la Serie V fallecieron, comprobándose así de nuevo la mayor mortalidad en este sexo (64), consecuencia de su superior susceptibilidad a la acción porfirinogénica del HCB (66) (92). Las ratas hembras desarrollan porfiria más rápidamente que los machos (92) (103), con tasas hepáticas más elevadas aún de Citocromo P-450 (112), y su respuesta al tóxico se ve disminuida por la ovariectomía e incrementada por la administración de altas dosis de estrógenos (93). Es preciso tener bien en cuenta que aun dentro de un mismo sexo y una misma camada existen marcadas variaciones individuales en la susceptibilidad de cada rata al HCB (66) (15) (33) (111).

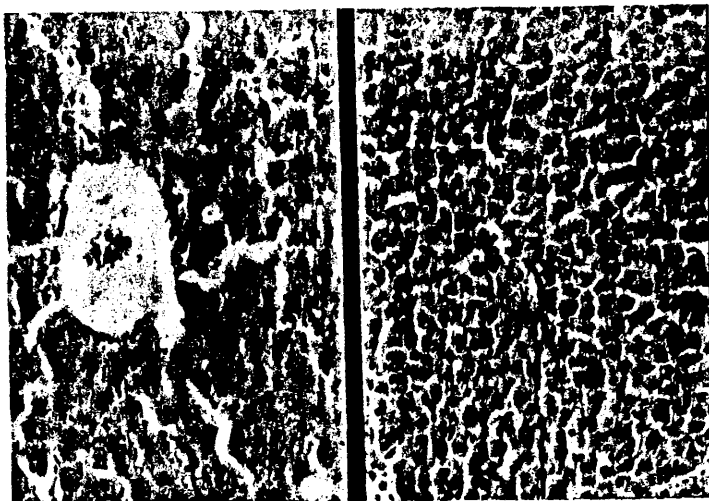
Una de las 5 ratas de la Serie VI, falleció al inicio de la intoxicación pero ésta glosa sin problemas continua da en los otros 4 animales hasta las 13 semanas.

Taljaard y cols. (121) comprobaron que las ratas pre viamente convertidas en sideróticas mediante la adminis-- tración de 5 dosis de 10 mg de hierro-dextrano desarrolla ban la porfiria más rápida e intensamente que las no side róticas. Y si bien la sobrecarga férrica acelera e inten sifica la inducción porfírica, la depleción de hierro dis minuye la acción porfirinogenética tanto del HCB ( 5 ) co mo de la tetraclorodibenzodioxina (119). Los efectos del hierro sobre el metabolismo porfirínico están aún sujetos a discusión ( 36). Dicho metal podría deprimir directamen te la actividad de la Uroporfirinógeno-decarboxilasa, lo cual ha sido observado in vitro (69 ), o quizás podría po tenciar la acción depresora del HCB sobre tal enzima (72 ). Aunque la administración previa o simultánea de hierro no resulta imprescindible para el desarrollo de la porfiria, nosotros nos hemos decidido en favor de su empleo ya que la exclusiva administración de HCB no origina hepatòside- osis ( 30 ) ( 35 ), dato histopatológico éste muy frecuen- temente observado en la PCT humana.

La hepatomegalia es un hecho común en la porfiria -- por HCB ( 121 ) ( 78 ) (118 ). Según Campbell ( 11 ), el híga- do se va agrandando y su peso incrementando paulatinamen- te hasta alcanzar un máximo tras 5 o 9 semanas de intosi- cación para irse reduciendo posteriormente hasta hacerse incluso más pequeño de lo normal alrededor de la 12ª sema- na. Por ello no ha de extrañarnos que el valor porcentual del peso de la víscera hepática en relación al peso corpo- ral alcance valores precisamente poco elevados en nues- -

tras muy porfíricas Series V, VI y VII (Tabla XXVII) en las que los animales fueron sacrificados tras 11 o más semanas de intoxicación.

Como ya comentábamos en un trabajo previo (35) basado en el estudio de las alteraciones hepáticas estructurales y ultraestructurales de las ratas de nuestra Serie I, tal hepatomegalia tiene su correlato histopatológico en la marcada hipertrofia, y a menudo hiperplasia hepatocitaria. En la composición fotográfica de la Figura 1 comparamos la imagen histológica del hígado de una rata control (a la izquierda) con la de una rata porfírica. Estos grandes hepatocitos, de localización preferente próxima a venas centrolobulillares y de citoplasma eosinófilo y anhisto, muestran grandes huecos que no se tiñen con el PAS ni con el Sudan. Por microscopía electrónica estos espacios vacíos corresponden a zonas de edema intracelular citoplasmático (Figura 2) o bien a grandes vacuolas (Figura 3) ocupadas en parte por material espiroideo en forma de cuerpos lamellares. El Retículo Endoplásmico Rugoso (Figura 4) a menudo circunscribe a las mitocondrias mientras que el Liso (Figura 5) aparece siempre hipertrofiado encinturando a veces a vacuolas probablemente lipodeas.



Figura\_1



Figura 2



Figura 3

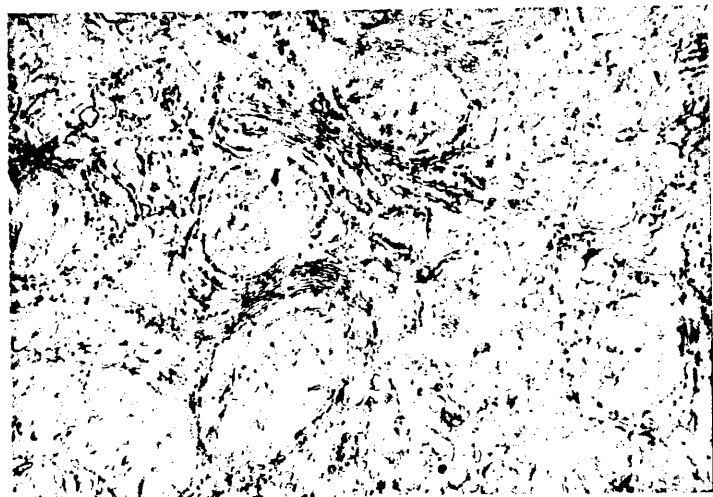


Figura 4

-180-

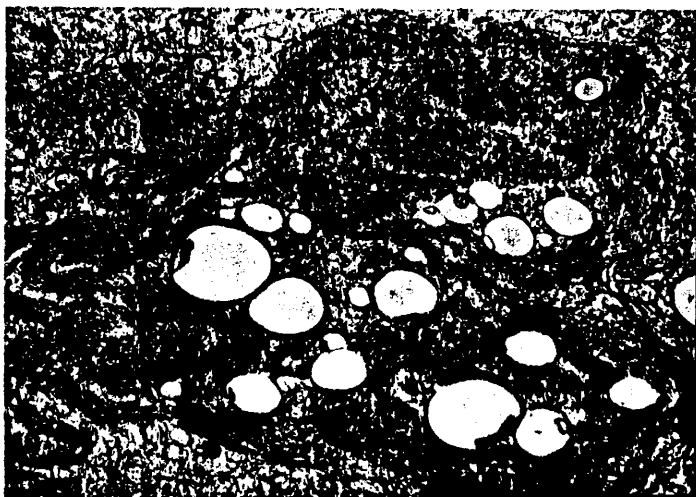


Figura 5

Incluimos de nuevo en la página adjunta la Tabla XXVII en la que quedan reflejados los valores medios y sus desviaciones standard de las fracciones porfirínicas urinarias y fecales en las ratas supervivientes de las diversas series. La marcada, aunque extremadamente variable, uroporfirinuria constituye un dato inequívoco del logro de la situación porfírica, de la que la coproporfirinuria y la coproporfirinorexia son también hechos característicos.

Igualmente volvemos a reproducir la Tabla LXXIV en la que se exponen los valores medios del análisis cromatográfico de las carboxil-porfirinas realizado sobre diversas ratas de las Series I, II, III, IV y V, así como en el grupo control. Resulta evidente el característico acúmulo hepático de las porfirinas más policarboxílicas que son excretadas tanto por vía urinaria como fecal. En bilis destaca la presencia predominante de dehidroisocoproporfirinógeno (23) que será posteriormente transformado por la flora intestinal en isocoproporfirina o porfirina  $P_1$  claramente detectable en heces.

Tras los estudios realizados en las cinco primeras series nos decidimos por el empleo de dosis pequeñas (50 mg/Kg/día) de HCB que vehiculamos en aceite de oliva administrándolo mediante sonda gástrica. Los animales fueron hechos previamente sideróticos mediante la administración de hierro-dextrano intraperitonealmente. Los resultados obtenidos tras el estudio seriado del metabolismo porfirínico en las ratas de las serie VI y VII los exponemos a continuación de forma individualizada y preferente.



METABOLISMO PORFIRINICO EN LA PORFIRIA EXPERIMENTAL POR HEXACLOREBENCENO.  
VALORES MEDIOS Y (DESVIACION STANDARD).

TABLA XXVII

RATAS SERIES	SEMANAS INTOX.	PESO CORPORAL	PESO HICADO	PH/PC X 100	FRACCIONES PORFIRINICAS				
					COPRO	URO	COPRO	HECES	PROTO
I (n=20)	15	327,00 (82,00)	20,70 (4,70)	5,30 (1,00)	27,00 (12,00)	66,00 (33,00)	87,00 (13,00)	72,00 (13,00)	
II (n=6)	5	262,00 (12,00)	16,80 (2,80)	6,40 (0,90)	34,00 (17,00)	93,00 (31,00)	94,00 (14,00)	78,00 (11,00)	
III (n=6)	3	262,00 (29,00)	20,10 (5,60)	7,80 (2,10)	62,00 (61,00)	51,00 (22,00)	46,00 (36,00)	130,00 (32,00)	
IV (n=4)	7	185,00 (19,00)	12,20 (1,10)	7,20 (1,00)	26,00 (26,00)	42,00 (39,00)	124,00 (30,00)	240,00 (110,00)	
V (n=3)	7	381,00 (103,00)	21,00 (6,00)	5,50 (0,90)	15,00 (15,00)	53,00 (45,00)	94,00 (54,00)	92,00 (12,00)	
VI (n=4)	14	207,00 (19,00)	13,25 (1,85)	4,35 (0,59)	76,75 (45,48)	268,75 (156,34)	93,25 (41,78)	80,75 (35,36)	
VII (n=6)	11	235,00 (37,74)	11,58 (1,66)	5,00 (0,89)	99,65 (31,39)	211,38 (80,95)	59,95 (43,47)	50,78 (34,11)	
Normales (n=19)	--	286,00 (77,37)	15,00 (1,83)	3,87 (0,62)	6,61 (0,80)	0,24 (0,08)	40,53 (8,11)	81,79 (17,00)	

REPARTO PORCENTUAL DE CARBOXIL-PORFIRINAS EN ALGUNAS RATAS DE LAS SERIES I, II, III Y  
IV Y V. (Valores medios y (Desviación standard))

TABLA LXXIV

ESPECIMEN	RATAS	8 COOH	7 COOH	6 COOH	5 COOH	4 COOH	P	2 COOH
ORINA	Intoxicadas	38,82 (18,76)	16,26 (11,14)	5,75 (6,26)	6,91 (5,58)	32,28 (20,25)		
	Controles	18,72 (4,12)	5,79 (1,92)	1,03 (0,96)	1,67 (1,35)	72,79 (4,71)		
HECES	Intoxicadas	7,08 (5,50)	5,88 (4,34)	4,43 (3,60)	10,92 (6,75)	17,92 (7,08)	4,38 (4,62)	49,36 (15,58)
	Controles	0,69 (0,90)	0,32 (0,37)	0,21 (0,20)	2,56 (1,67)	15,00 (7,34)		81,22 (8,93)
HIGADO	Intoxicadas	60,53 (12,99)	27,03 (9,93)	0,61 (1,05)	0,70 (1,77)	6,03 (10,61)		5,10 (10,47)
	Controles	3,84 (2,42)				41,31 (5,84)		54,85 (5,50)
BILIS	Intoxicadas	15,58 (14,32)	17,37 (10,40)	4,41 (9,17)	7,82 (4,65)	16,90 (14,88)	23,20 (16,06)	14,72 (14,04)
	Controles	0,42 (0,72)	0,18 (0,25)	0,23 (0,39)	2,92 (1,69)	51,33 (7,92)	0,80 (0,82)	42,87 (7,77)

Como puede apreciarse en las Figuras 6, 7, 8 y 9 la exclusiva administración de hierro-dextrano no modificó substancialmente la excreción cuanti ni cualitativa de las porfirinas. Aunque la porfirinuria sólo se observa muy moderadamente incrementada tras 4 semanas de intoxicación (Figura 6) sin embargo el análisis cromatográfico del reparto porcentual de las carboxilporfirinas urinarias (Figura 8) muestra ya un notable incremento de las porfirinas más policarboxílicas con descenso especular de la coproporfirina (4 -- COOH). En este momento la excreción fecal de las fracciones porfirínicas se ve ya elevada (Figura 7) a expensas de las más policarboxílicas (Figura 9) y de la porfirina  $P_1$ . Los índices urinario y fecal-PCT se aprecian pues claramente alterados en esta 4ª semana de intoxicación (Figura 10). En la 6ª semana la situación porfírica ha quedado ya plenamente establecida tras el brusco ascenso de la porfirinuria -- (Figura 6), que si bien en semanas sucesivas puede aún incrementarse más no se ve acompañada de substanciales modificaciones en el patrón excretorio urinario y fecal de las diversas carboxilporfirinas (Figuras 8, 9 y 10).

La cuantificación de la porfirinorrea resulta sumamente variable (Figura 7), en parte debido a la poca fiabilidad de una adecuada recogida de heces durante los períodos de 24 horas y en parte también por el mayoritario origen -- exógeno de las porfirinas dicarboxílicas (138). Así en la Figura 11, al comparar el perfil distributivo de las diversas carboxilporfirinas analizadas casi simultáneamente en orina-riñón y heces-bilis en una de estas ratas de la Serie VI, observamos como las porfirinas dicarboxílicas apenas --

son detectables en bilis mientras que su presencia en heces es mayoritaria, lo que indudablemente traduce su aporte exógeno.

En la Figura 12 representamos conjuntamente la excreción cuantitativa media de las diversas carboxilporfirinas urinarias y fecales analizadas en la Serie VI tras 13 semanas de intoxicación. Las porfirinas dicarboxílicas, lipofílicas, se eliminan exclusivamente por vía bilio-fecal (139) debiendo pues en principio ser interpretada su posible presencia en orina como debida a contaminación fecal durante la recogida de muestras en las jaulas metabólicas. Las porfirinas más policarboxílicas (8 y 7 COOH) se excretan preferentemente por orina como lógica consecuencia de su hidrofili-lidad, mientras que la tetracarboxílica coproporfirina -- que en circunstancias normales se elimina con ligera preferencia por vía fecal lo hace en mayor cuantía por orina en estas ratas porfíricas.

En una próxima publicación ( 37 ) exponemos los datos sobre la detección de Isocoproporfirinas en la orina de 14 ratas con Porfiria Experimental inducida por HCB. La desetil-Isocoproporfirina fue detectada en la orina de todas -- las ratas porfíricas, siendo su valor porcentual medio de 1,80. La Oxo-Isocoproporfirina, unicamente se comprobó, y en forma de mínimas trazas en la orina de 3 animales. Los valores de Desetil y de Penta-carboxilporfirina mostraron una correlación lineal estadísticamente significativa -- ( $r = 0,736$ ;  $p < 0,05$ )

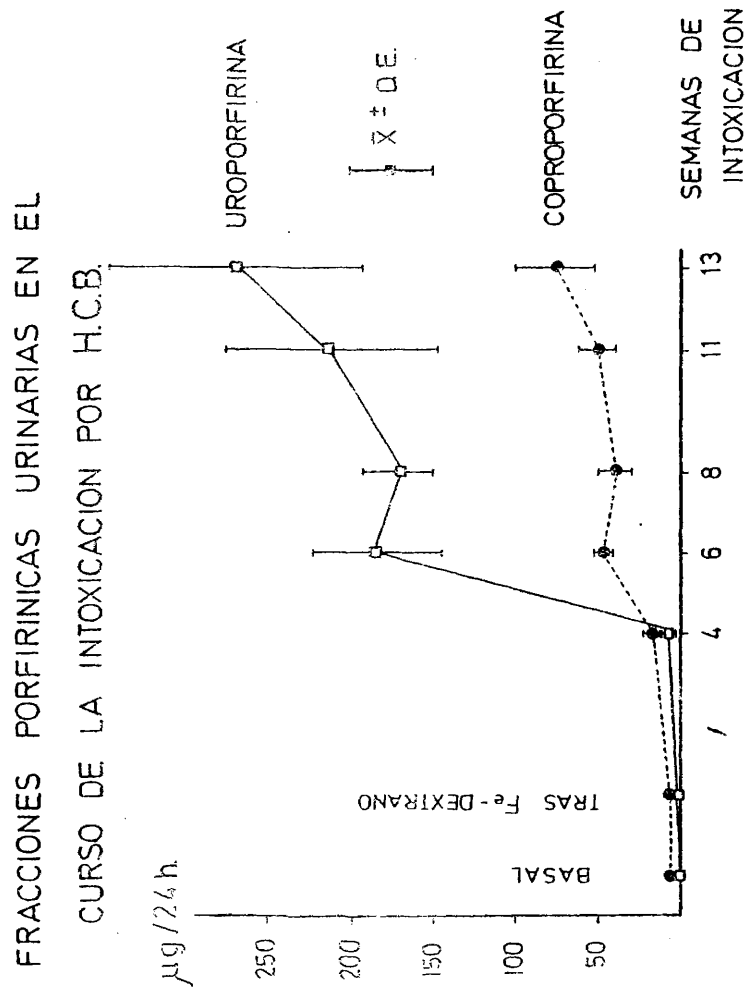
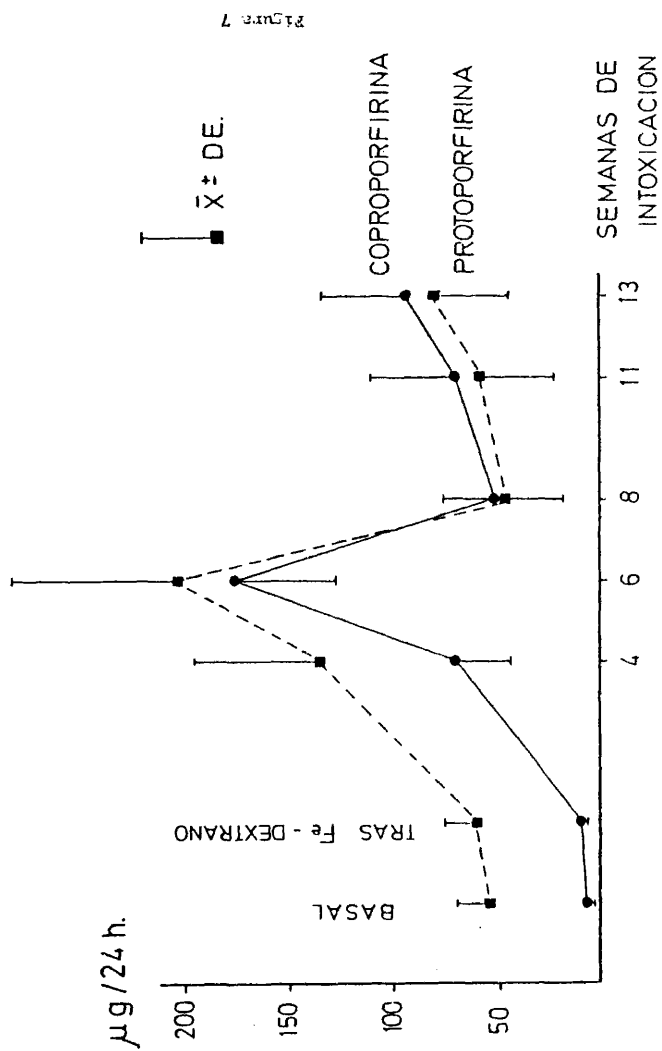
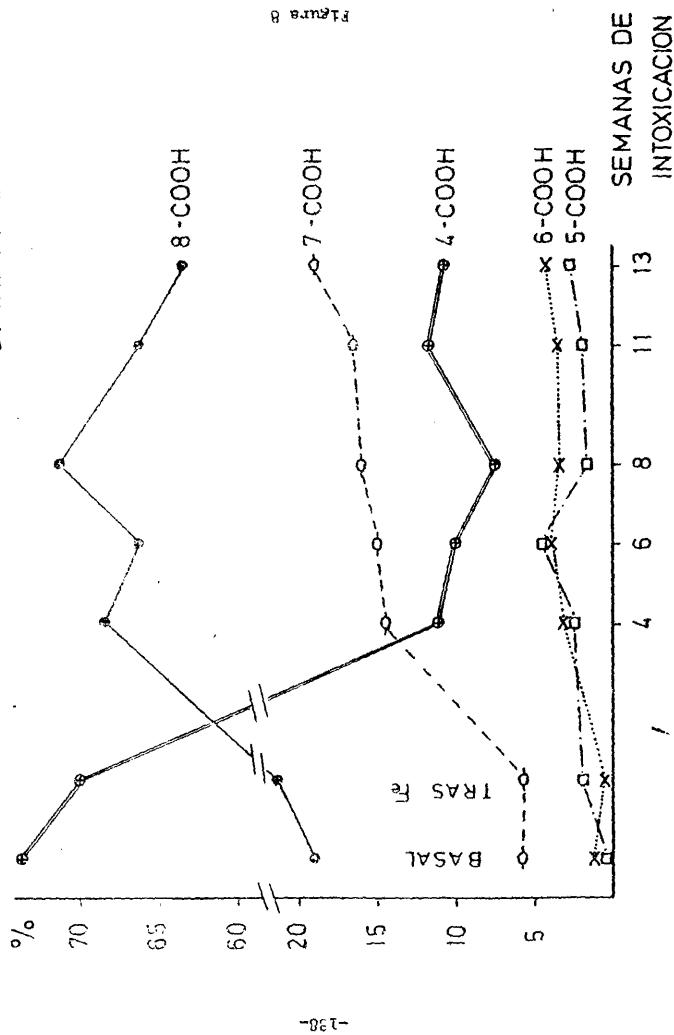


Figure 6

# FRACCIONES PORFIRINICAS FECALES



REPARTO PORCENTUAL MEDIO DE LAS CARBOXILPORFIRINAS  
URINARIAS



# REPARTO PORCENTUAL MEDIO DE LAS PORFIRINAS FECALES MAS POLICARBOXILICAS

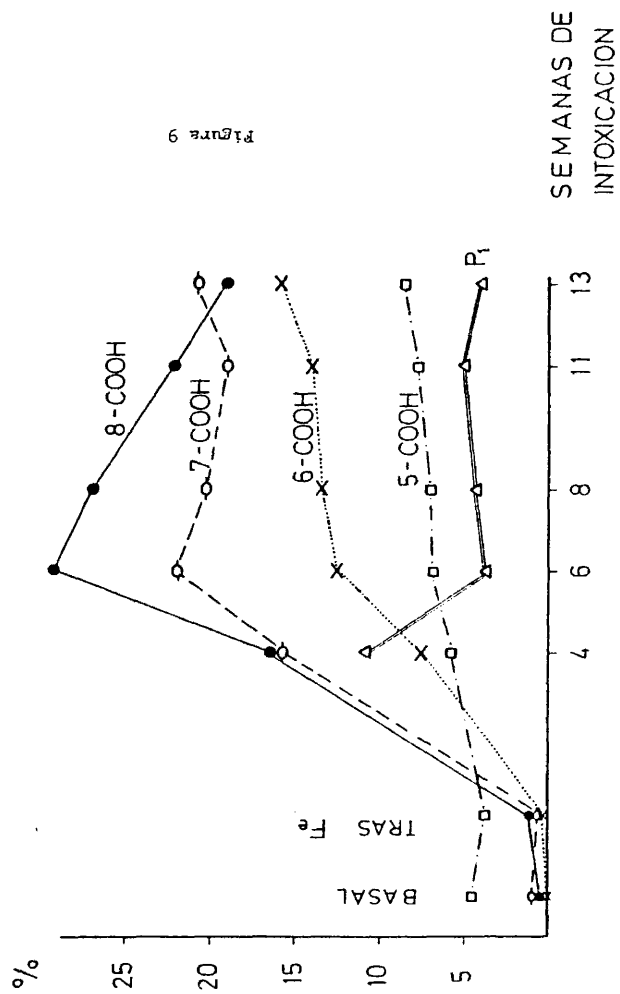
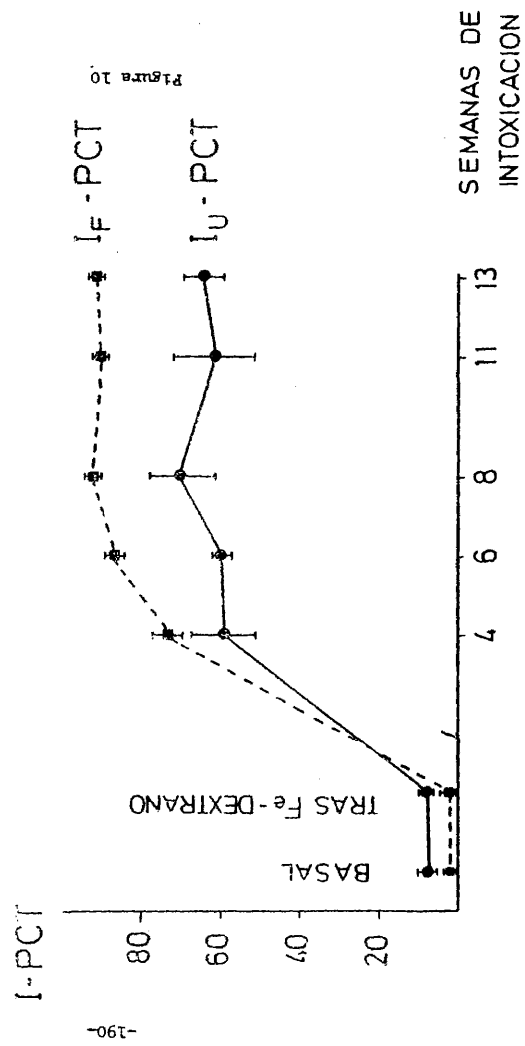


Figure 9



# INDICES URINARIO Y FECAL -PCT- EN EL CURSO DE LA INTOXICACION POR H.C.B.



-191-

-191-

REPARTO PORCENTUAL DE LAS DIVERSAS  
CARBOXIL-PORFIRINAS (Rata nº 3)

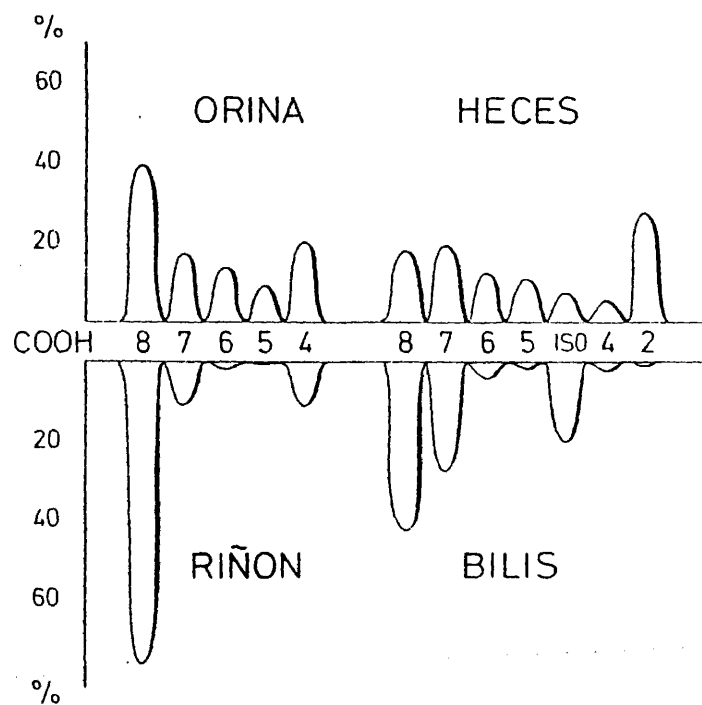
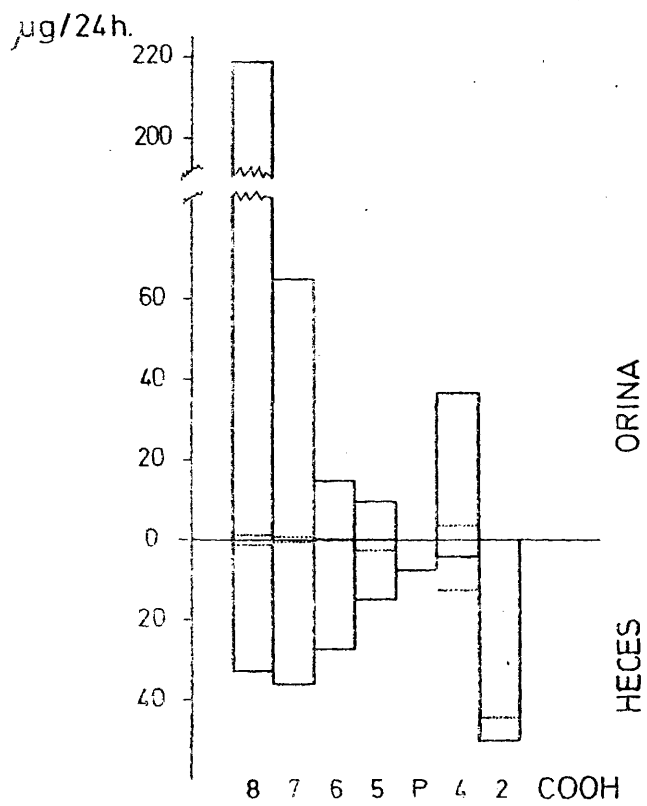


Figura 11

-192-

-192-

EXCRECION DE LAS DIVERSAS CARBOXIL-PORFIRINAS  
EN LA 13ª SEMANA DE INTOXICACION



-----= valores basales

Figura 12

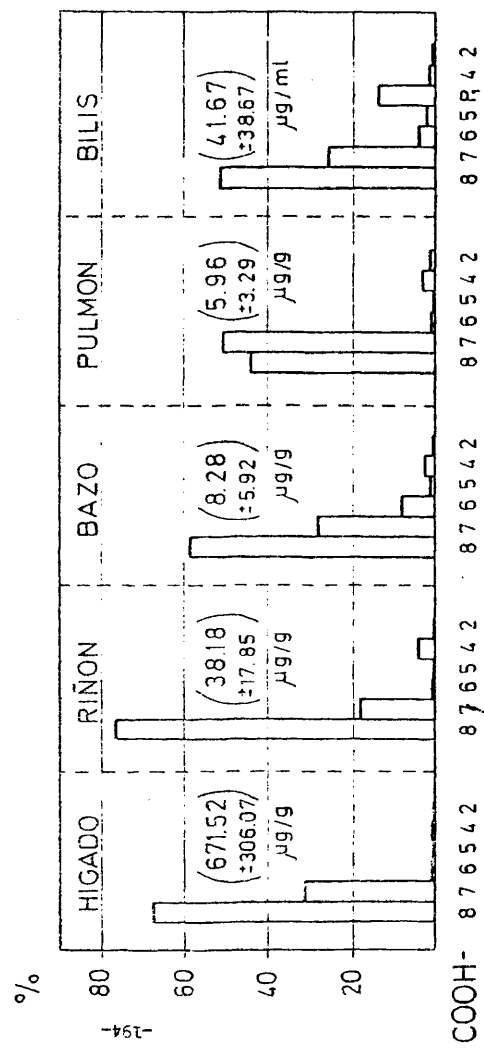
Mediante cromatografía cuantitativa (137) hemos analizado en las ratas de la Serie VI la tasa de carboxilporfirinas de diversos órganos (Figura 13). Como es lógico, el hígado, lugar primario de la hiperporfirinosíntesis, es el órgano que muestra un mayor acúmulo de porfirinas, seguido -- por el riñón que representa la principal ruta excretoria de las porfirinas más hidrofílicas. Estas también impregnan el bazo y el pulmón, órgano este último en el que curiosamente la heptacarboxilporfirina supera a la uroporfirina (8 COOH). Diversos autores han comprobado también este característico acúmulo de porfirinas en hígado (102) (121) (30), bazo -- (95) (66) (22) y riñón (102) (95) (22) (15).

En nuestra Serie, al igual que en la de San Martín y cols (95) y en la de Doss y cols. (22), apreciamos un marcado predominio de la porfirina octocarboxílica (uroporfirina) en el tejido renal.

La medición de la uroporfirinógeno-decarboxilasa hepática realizada en los 4 animales supervivientes de esta Serie VI por el Profesor Elder (Cardiff) reveló los esperados valores de hipoactividad enzimática.

Aunque la excreción total de porfirinas no se observó cuantitativamente muy elevada a las 4 semanas de intoxicación, el estudio cromatográfico de la excreción porfirínica realizado en este momento, en la mencionada Serie VI, evidenció ya notables anomalías. Por ello planificamos el estudio de una nueva serie (Serie VII) con el objeto de analizar la excreción porfirínica cuanti y cualitativamente de forma más seriada, es decir, con controles semanales desde el inicio de la intoxicación.

TASA PORCENTUAL MEDIA DE CARBOXIL-PORFIRINAS EN  
DIVERSAS VISCERAS DE RATAS CON PORFIRIA POR HCB.



En las figuras 14 y 15 representamos la excreción cuantitativa urinaria y fecal respectivamente, de las clásicas fracciones Uro, Copro y Proto a lo largo de la intoxicación y en la Figura 16 la distribución porcentual de diversas carboxilporfirinas, cuyo patrón queda resumido en los índices de la Figura 17. Nuevamente comprobamos que la administración de --hierro-dextrano, no modificó ni la cuantía ni el patrón de excreción porfirínica. La Uroporfirinuria se fue incrementando modesta pero paulatinamente durante las 4 primeras semanas de intoxicación (Figura 14) y en el análisis cromatográfico (Figura 16) se observa que a las 4 semanas la 8 COOH supera el valor de 20%, mientras que el valor porcentual de 4 COOH es ya inferior al 60%.

La Coproporfirinorrea (Figura 15) se incrementa ostensiblemente a las 4 semanas aunque la concentración de las porfirinas fecales muestra amplias oscilaciones y marcadas variaciones individuales que se traducen en los elevados valores de la desviación standard.

Curiosamente observamos una precoz presencia de Isocoproporfirina o Porfirina  $P_1$  en heces (Figura 16) lo que da lugar a una pronta elevación del índice fecal-PCT y del cociente -- $P_1/CP$  (Figura 17).

Para Day y cols. ( 15) esta Isocoproporfirina procede de su síntesis en el tracto intestinal y Blekkenhorst y cols. -- ( 5 ) han comprobado que la actividad de la Urogen-decarboxilasa a nivel del colon disminuye dramáticamente a los 10 días de intoxicación.

# RATAS INTOXICADAS POR HEXACLOROBENCENO (ORINA)

FRACCIONES PORFIRINICAS

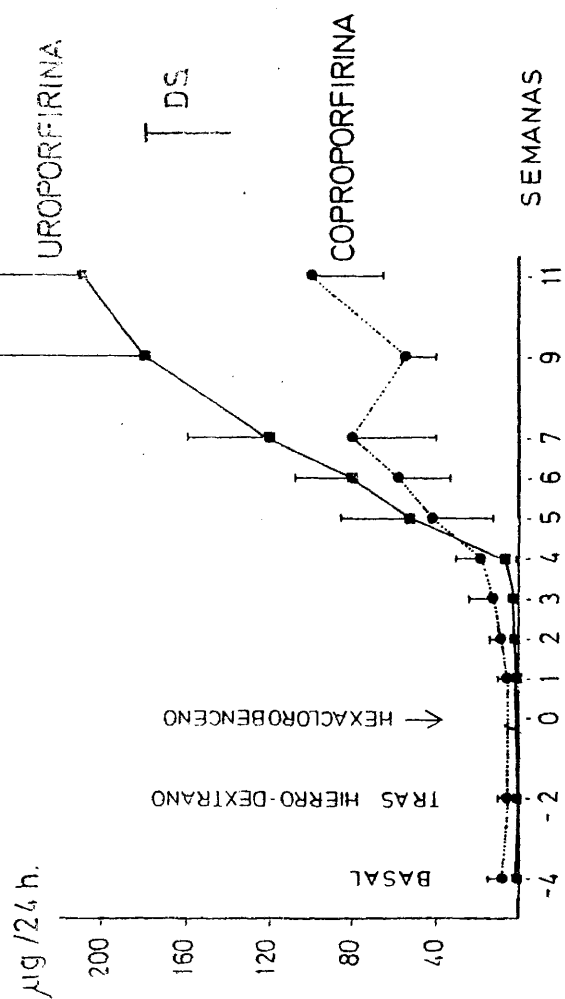
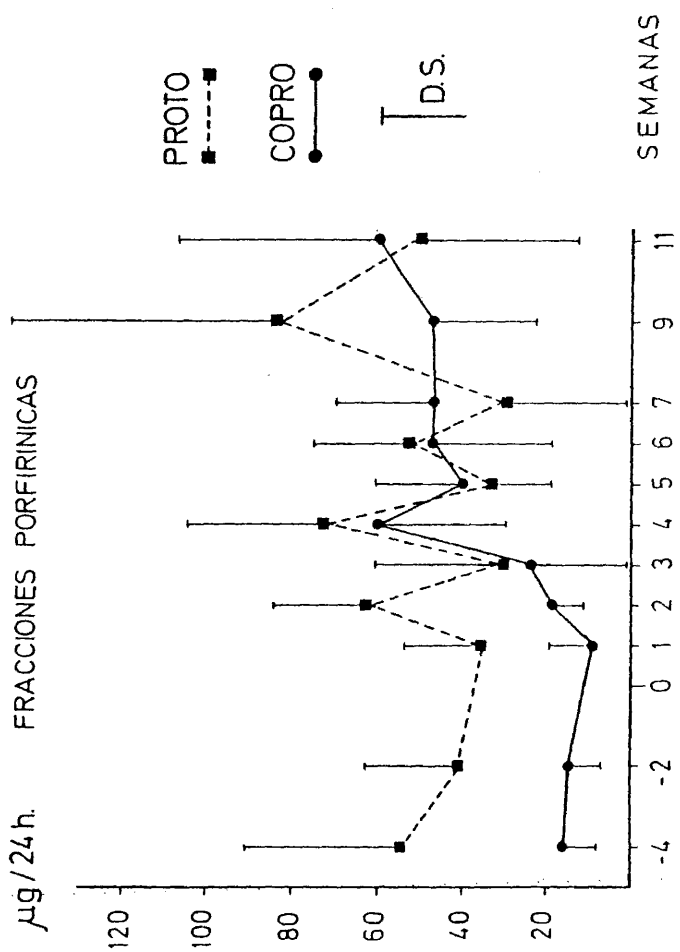


Figura 14

-196-

-196-

# RATAS INTOXICADAS POR HEXACLORO BENCENO (HECES)



PROTO  
COPRO  
D.S.

Figure 15



-198-  
RATAS INTOXICADAS POR HEXACLOROBENCENO

DISTRIBUCION PORCENTUAL MEDIA DE  
OCTO HEPTA Y TETRA- CARBOXIL PORFIRINAS

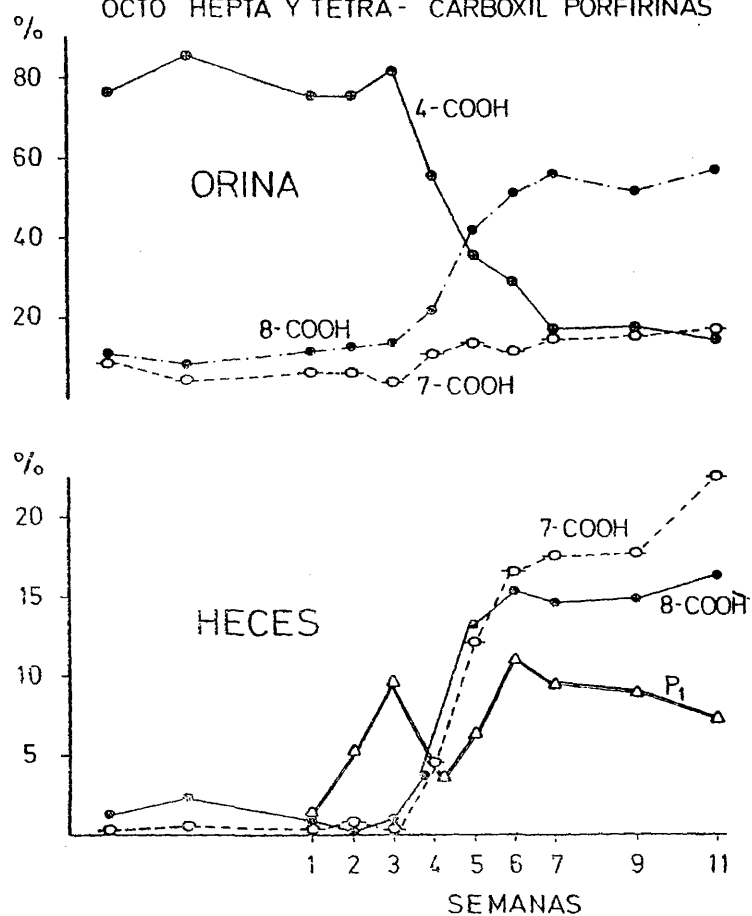


Figura 16

# RATAS INTOXICADAS POR HEXACLOROBENCENO

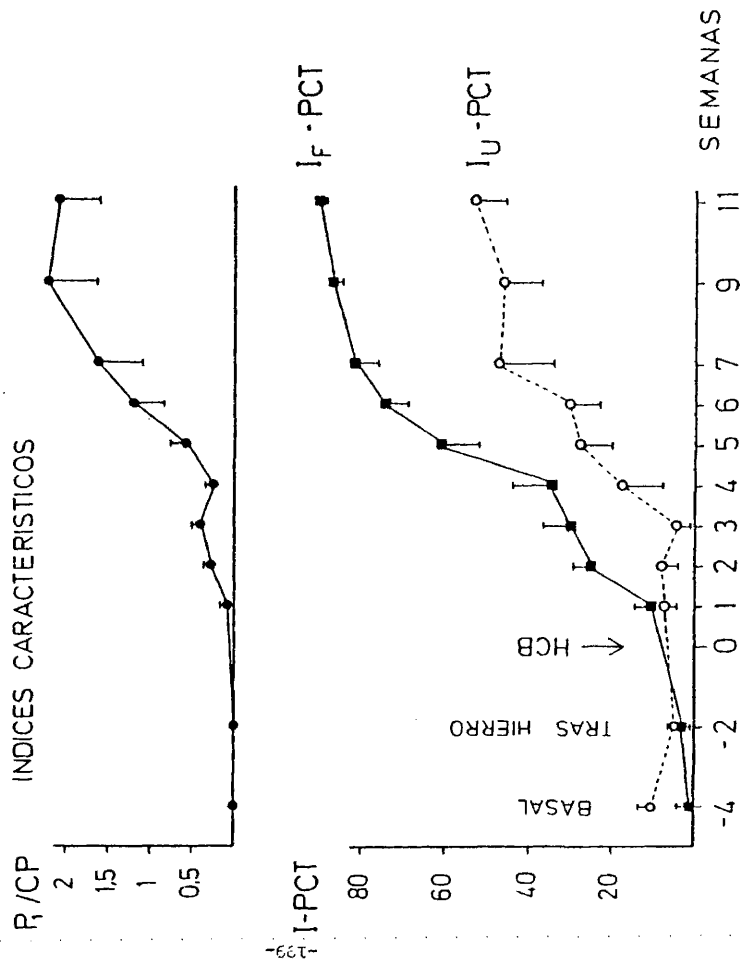


Figure 17

La sorprendente e interesante tesis de la escuela Sudáfricana sobre el mayoritario origen extrahepático de las -- Porfirinas excretadas en la PCT y la Porfiria por HCB no ha sido desde luego plenamente aceptada por la mayoría de los porfirinólogos.

En base al cálculo de la porfirinuria total como la suma de las fracciones Copro y Uro, tras el estudio del reparto porcentual de las diversas carboxil-porfirinas por cromatografía hemos cuantificado como se expresa en la Figura 18 la excreción de cada una de éstas.

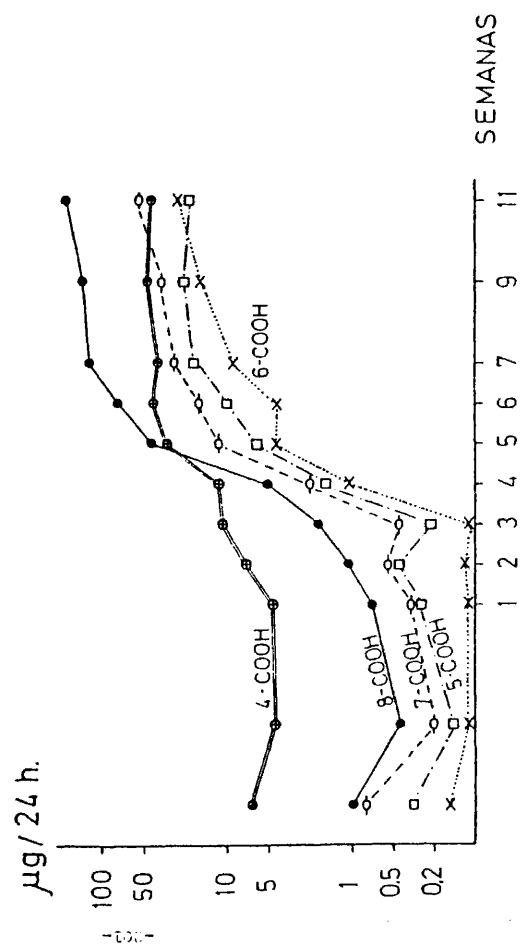
De forma similar a como hicimos respecto a una de las ratas de la Serie anterior en la Figura 19 contrastamos el patrón de excreción urinaria y fecal con el observado a nivel renal y biliar. Nuevamente observamos la mínima presencia de porfirinas dicarboxílicas en bilis que no obstante -- aparecen mayoritariamente en heces sin duda por su origen -- exógeno. La presencia mayoritaria de Isocopro-porfirinas en bilis que son sin embargo minoritarias en heces representa bien su destrucción o transformación intestinal o bien la -- presunta existencia de circulación entero-hepática.

En la Figura 20 exponemos el patrón y cuantía del acúmulo visceral de porfirinas en las ratas de esta Serie VII. En esta ocasión la porfirina Octocarboxílica es también claramente predominante a nivel pulmonar.

En la Figura 21 podemos apreciar la tardía pero muy -- marcadamente incrementada excreción urinaria de los precursores ALA y PBG.

# ELIMINACION CUANTITATIVA DE LAS CARBOXIL-PORFIRINAS URINARIAS

## DISTRIBUCION DE PORFIRINAS EN ORINA A LO LARGO DE LA INTOXICACION POR HCB EN RATAS



REPARTO PORCENTUAL DE LAS DIVERSAS CARBOXIL-PORFIRINAS  
PORCENTAJE DE LAS MEDIAS AL FINAL DE LA INTOXICACION DE RATAS  
POR H.C.B.

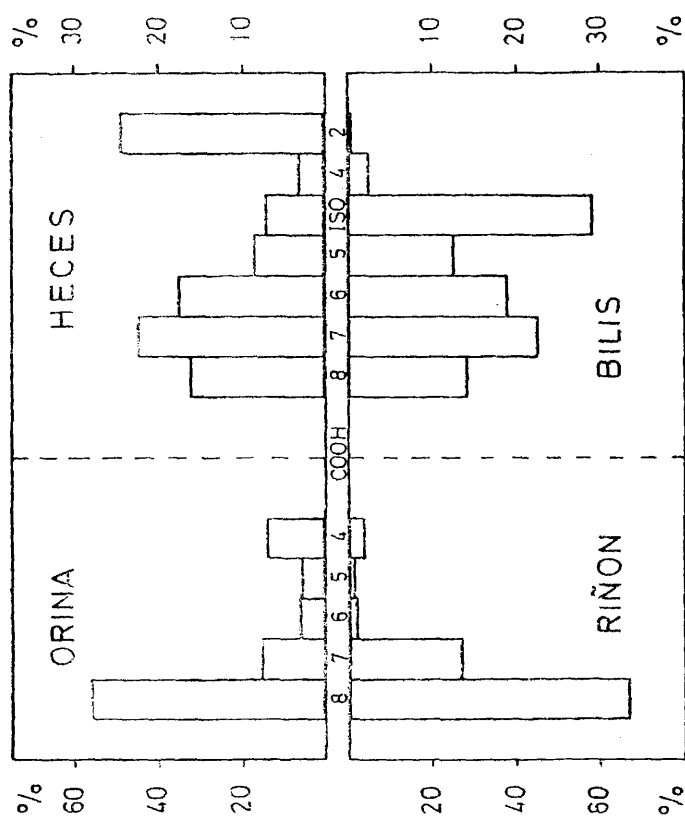


Figura 19

TASA PORCENTUAL MEDIA DE CARBOXIL-PORFIRINAS EN  
DIVERSAS VISCERAS DE RATAS CON PORFIRIA POR H.C.B.

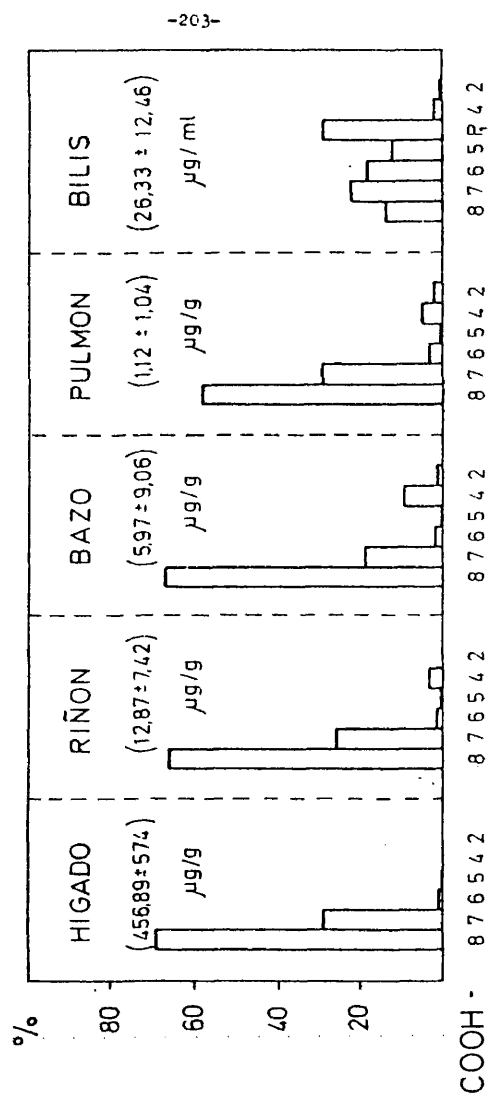
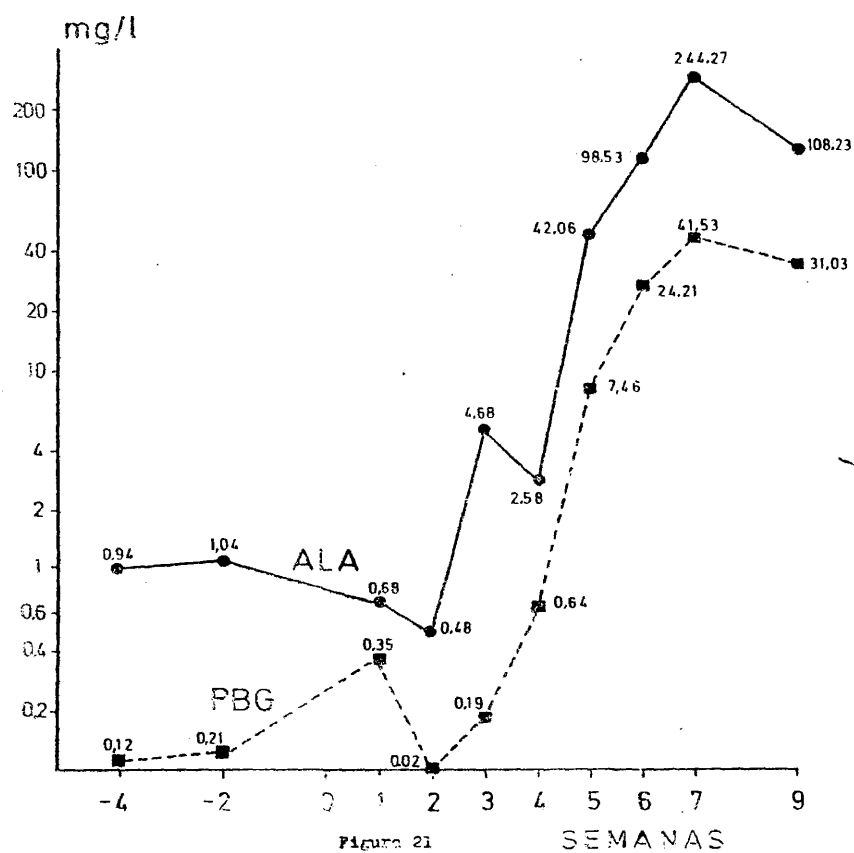


Figura 20

-204-

RATAS INTOXICADAS POR HEXACLOROBENCENO  
(ORINA RECIENTE)  
EXCRECION DE PRECURSORES



Así pues al estudiar seriadamente la excreción de porfirinas observamos, confirmando los hallazgos de otros autores (121) ( 30) ( 44 ), que a las 4 semanas de intoxicación la eliminación de porfirinas sólo se encuentra muy discretamente elevada para incrementarse hacia la 6ª semana de forma brusca. Blekkenhorst y cols. ( 5 ) aprecian durante ese primer mes una fase precoz transitoria de moderada coproporfirinuria y porfirinorrea durante la que se asiste a una -- disminución pasajera de la actividad del enzima uroporfirínógeno-decarboxilasa hepático. Este retraso en el comienzo de la porfiria puede ser debido, al menos en parte, al lapso de tiempo que ha de transcurrir hasta que se alcance un nivel crítico de HCB en el hígado, pero no está aún claro -- si la porfiria se desarrolla tan pronto como dicho nivel se ha alcanzado o bien se inicia entonces algún otro cambio, -- como por ejemplo la alteración de las organelas intracelulares, a través del cual se origina la porfiria ( 33 ). Simón y cols. (103) han llamado la atención sobre la importancia que una presunta alteración de las membranas celulares puede tener en la patogénesis de la PCT y de la porfiria por -- HCB. Este tóxico, substancia fuertemente lipofílica, podría quedar incorporado a los fosfolípidos de las membranas lipoproteicas originando un cambio en la orientación de sus moléculas alterando la permeabilidad ( 63 ). Lo que sí parece evidente es que es el propio HCB y no sus metabolitos el -- que da lugar a las alteraciones del metabolismo porfirínico (104), aunque tanto el pentaclorobenceno como el pentaclorofenol inducen el citocromo P-450 hepático ( 44 ). Sin embargo, aún no se puede excluir el que el desencadenamiento de



la porfiria dependa directamente de algún producto reactivo intermedio de corta vida media probablemente detoxificado -- por glutathion, tripeptido éste cuya concentración hepática podría verse depleccionada según se va desarrollando la porfiria. Este descenso del glutathion daría lugar a un incremento en la concentración de iones metálicos libres (normalmente complejados con glutathion) que podrían acoplarse a -- los grupos -SH catalíticos de la uroporfirinógeno-decarboxilasa inhibiendo su actividad (127).

La enzimopatía básica de la porfiria inducida por HCB reside en una hipoactividad hepática de la uroporfirinógeno decarboxilasa (EC 4.1.1.37) (33). Tal deficiencia es también objetivable en riñón (95) e incluso colon (5), por lo que se ha sugerido (15) que gran parte de las porfirinas acumuladas y excretadas pueden provenir de su síntesis exagerada en estos órganos. La actividad decarboxilativa es en cambio normal en bazo y en glóbulos rojos (94). Como lógica consecuencia de este transtorno se incrementa la actividad de la Aminolevulín-sintetasa (84), enzima (EC 2.3.1.37) limitante de la porfirinosíntesis, aunque en cuantía moderada como sucede en la PCT. Otros de los enzimas previos al deficitario, tales como aminolevulin-dehidrasa (EC 4.2.1.24) y uroporfirinógeno-sintetasa (EC 4.3.1.8), pueden verse también incrementados en un esfuerzo compensatorio.

El pentaporfirinógeno III acumulado en el hígado actuaría, según Elder (28) como inhibidor competitivo del coproporfirinógeno III para la coproporfirinógeno-oxidasa -- (EC 1.3.3.3) y, aunque la actividad hepática de este enzima es normal en la porfiria por HCB (31), resultaría deficitaria

ria la metabolización del coproporfirinógeno que se acumula ría y excretaría en exceso mientras que el pentaporfirinógeno sería transformado en dehidroisocoproproporfirinógeno y a partir de éste en isocoproporfirinas (28 ). Estas porfirinas - de la serie isocopro son, como en la PCT, excretadas por bi lis y eliminadas por heces (33 ) (32 ) pudiendo también ser detectadas en mínimas cantidades en la orina (37 ). Así - - pues, las porfirinas acumuladas en el hígado constituyen -- una selectiva retención de las más hidrofílicas y no son -- por tanto representativas del patrón de superproducción por fírica (30 ). Como puede observarse por microscopía de fluo rescencia el acúmulo hepático de porfirinas se inicia en -- los hepatocitos más próximos a la vena centrolobulillar (118) en donde precisamente los cambios degenerativos son más acu sados.

En la rata porfírica, al igual que en la PCT, se apre cia fluorescencia en los nefrocitos del túbulo proximal y - del asa de Henle (56 ), lugares en los que probablemente -- tiene lugar una reabsorción porfirínica. Según Doss (22 ) - el acúmulo renal de porfirinas no traduce su síntesis local como opina Day (15 ) (16 ), sino que representa únicamente la impregnación de las porfirinas formadas en el hígado y - transportadas por vía hemática al riñón para su excreción.

Como en la PCT se observa también en la porfiria indu cida por HCB un marcado incremento en la tasa hepática del citocromo P-450 (108 ) (70 ) (3 ), aunque los estudios es-- spectrales y de cinética enzimática (136) sugieren que se -- trate de una hemoproteína distinta o al menos mixta (127),

es decir, con propiedades tanto del citocromo P-450 (la forma inducida por el fenobarbital) como del P-448 (forma inducida por el benzopireno).

Aunque negada por algunos autores ( 7 ), ha sido descrita en las ratas la existencia de lesiones cutáneas ( 82 ) sobre todo tras la exposición crónica a la luz ultravioleta de zonas de piel afeitada en donde incluso son reproducibles por suave fricción las típicas ampollas ( 81 ).

El característico patrón de acúmulo hepático de excreción urinaria de las porfirinas octo y heptacarboxílicas -- ( 121 ) ( 30 ) ( 22 ) ( 90 ) -- completa la semejanza de esta porfiria por HCB con la PCT humana. No obstante existen entre ambas formas ciertas diferencias. En las ratas porfíricas la eliminación urinaria de los precursores aminolevulínico y porfobilinógeno puede verse marcadamente incrementada ( 78 ) ( 44 ) ( 56 ) ( 70 ) ( 17 ) como ya observamos en las ratas de la Serie VII, y por otro lado, las porfirinas acumuladas -- y excretadas por estos animales pertenecen en su gran mayoría a la variedad isomérica III ( 22 ) ( 90 ) ( 57 ). nos sorprende el escaso incremento del valor porcentual de heptacarboxilporfirina en la orina de nuestras ratas porfíricas, de tal forma que aunque llega a superar al valor de la coproporfirina tetracarboxílica su valor medio se sitúa alrededor o por debajo del 20%, hecho éste también observable en las series de otros autores ( 121 ) ( 30 ) ( 22 ) ( 90 ).

En 30 pacientes con PCT el valor porcentual medio de ~~dic~~ heptacarboxilporfirina alcanzó el 32% (Figura 22). Es

posible que, como reconoce Elder (33), la tan predominante eliminación urinaria de uroporfirina (octocarboxílica) sea - en parte debida a la formación no enzimática de la misma por condensación in vitro a partir de porfobilinógeno. La excreción fecal de esta octocarboxílica uroporfirina sólo alcanzó en nuestros 30 pacientes una cifra próxima al 2%, mientras que en las ratas porfíricas su presencia era mayoritaria (Figura 22). En esta comparación de los patrones distributivos de las diversas carboxilporfirinas urinarias y fecales entre la PCT y su modelo experimental (Figura 22) resulta notable la mayor eliminación porcentual fecal en los animales de las porfirinas octo, hepta y hexacarboxílicas en detrimento de las tetracarboxílicas, aunque la relación  $P_1/Co$  pro se incrementa en similar proporción que en los humanos (29). Podría achacarse esta marcada presencia en heces de las porfirinas más policarboxílicas a contaminación urinaria pero resulta evidente su excreción predominante cuando la porfirinuria es aún cuantitativamente mínima como sucede - - tras 4 semanas de intoxicación (Serie VI).

En la Figura 22 comparamos el patrón excretorio porcentual de la PCT con el observado en las ratas de la Serie VI, mientras que en la Figura 23 establecemos dicha comparación frente a las ratas de la Serie VII y en forma de resultados cuantitativos. Nos sorprende la relativamente escasa porfirinuria de las ratas porfíricas.

En 4 conejos intoxicados con HCB De Matteis y cols. - - (17) observaron una porfiria más semejante a la PCT humana

no sólo en razón de su cuadro bioquímico sino también por la ausencia de las marcadas alteraciones neurológicas tan usuales en las ratas. Los análisis del patrón acumulativo y excretorio de las diversas carboxilporfirinas podrán aclarar - en un futuro si efectivamente la porfiria inducida a conejos constituye un mejor modelo experimental.

COMPARACION DE LA EXCRECION DE PORFIRINAS  
EN LA PORFIRIA HUMANA (PCT)  
Y EXPERIMENTAL (P-HCB)

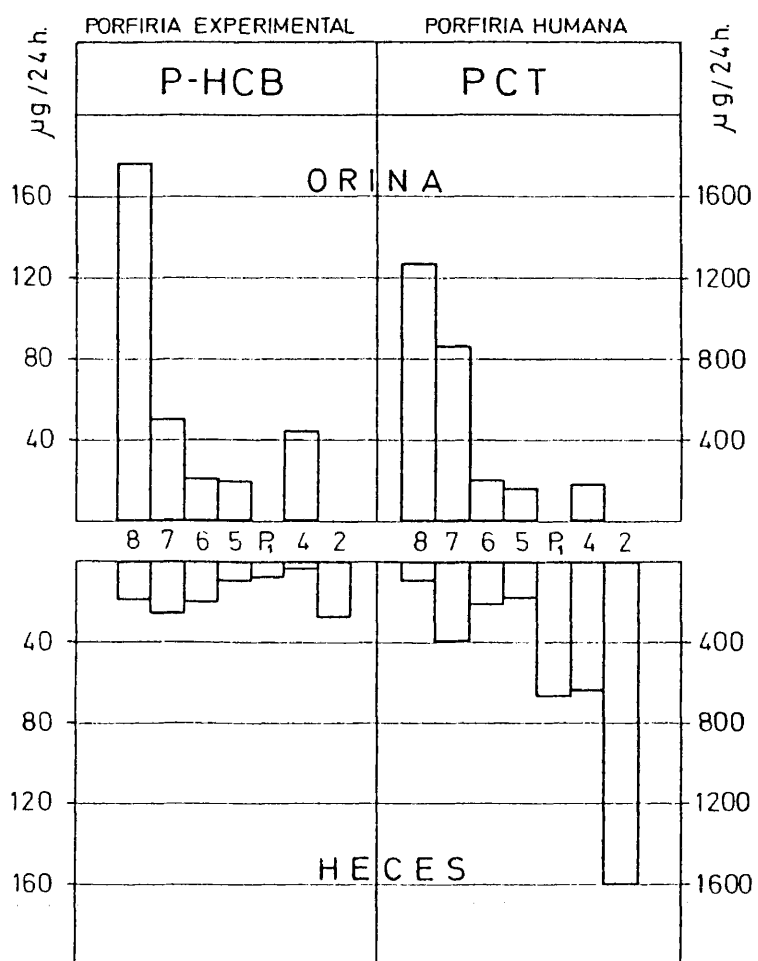


Figura 22

-212-

-212-

PATRON EXCRETORIO EN LA PORFIRIA  
EXPERIMENTAL POR HCB.  
Y EN LA PCT. HUMANA

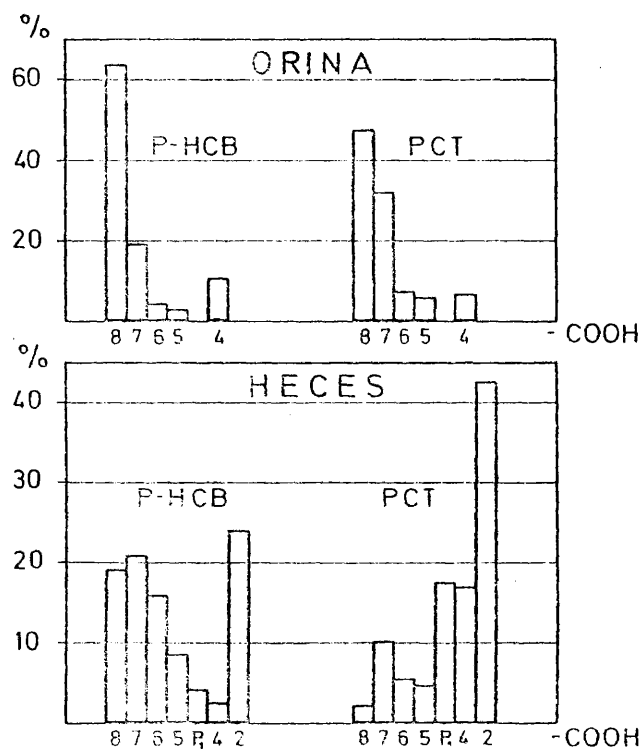


Figure 23

Finalmente a modo de ejemplo o ilustración gráfica exponemos algunas fotografías de la fluorescencia de las porfirinas acumuladas en hígado y bilis (Figura 24) y en diente -- (Figura 25) de una rata porfírica.

En la Figura 26 se muestra el cromatograma de 4 orinas de las ratas de la serie VI a las 11 semanas de intoxicación. Resulta evidente la presencia de las porfirinas más policarboxílicas, porfirinas observables también en las heces de estas mismas ratas como muestra la Figura 27 en la que también se aprecia una mancha con  $R_F$  intermedio entre las porfirinas penta y tetracarboxílicas y que corresponde a Isocoproporfirina o porfirina  $P_1$ .

También en la Figura 28 apreciamos la mancha correspondiente a Dehidroisocoproporfirina en la bilis de tres ratas de la Serie I mientras que a la derecha de la fotografía se observa la única presencia de Porfirinas Octo y Heptacarboxílicas en el tejido hepático de uno de estos animales.



-214-

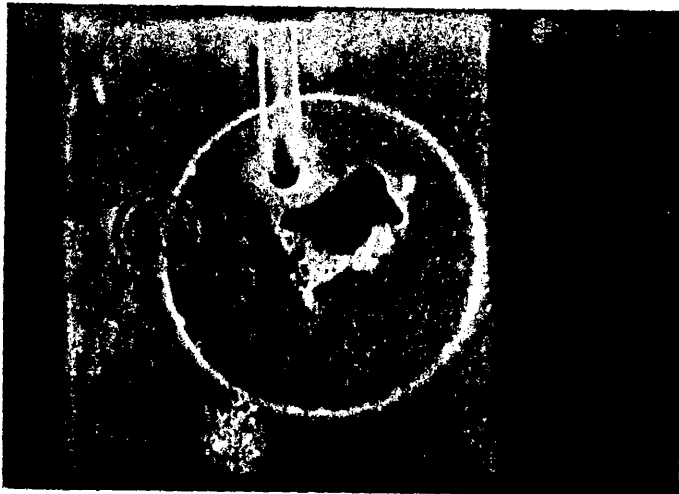


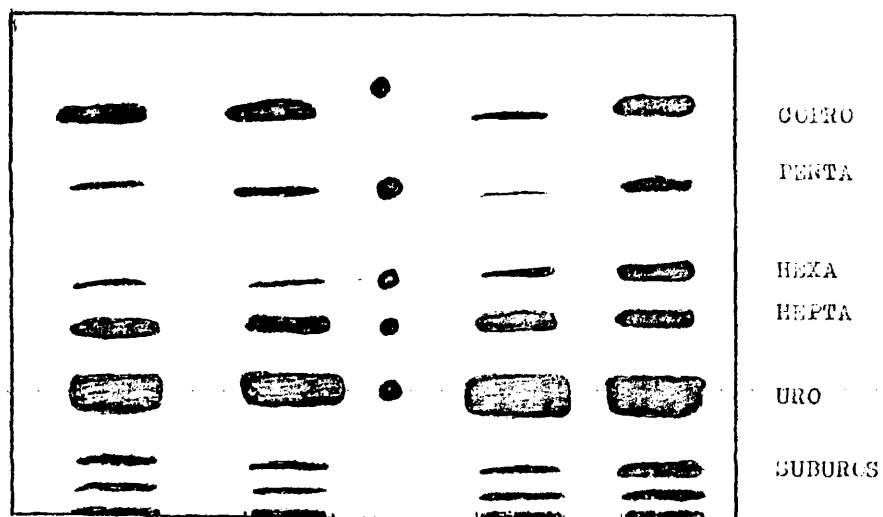
Figura 24



Figura 25



Figura 26



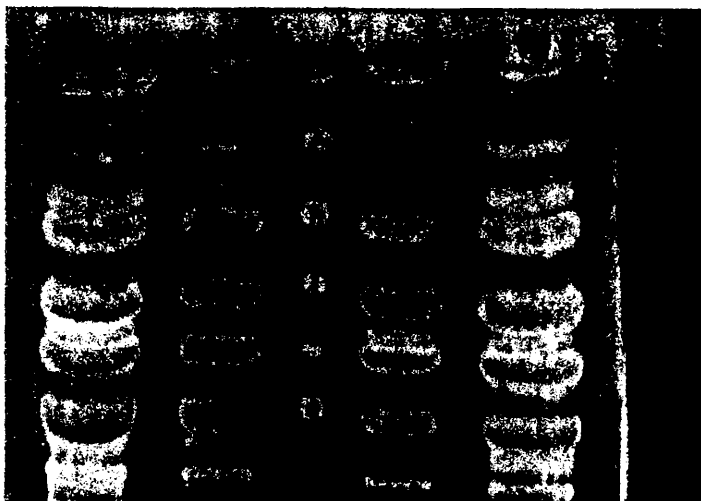
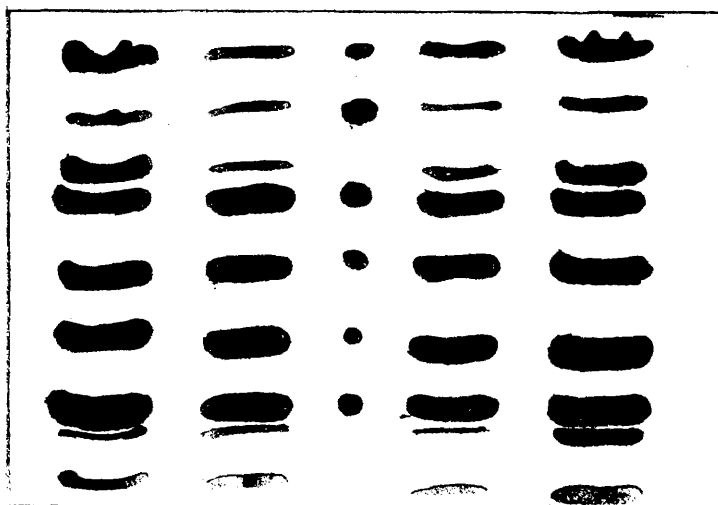


Figura 27



PROTO

COPRO

ISOCOPRO  
PENTA

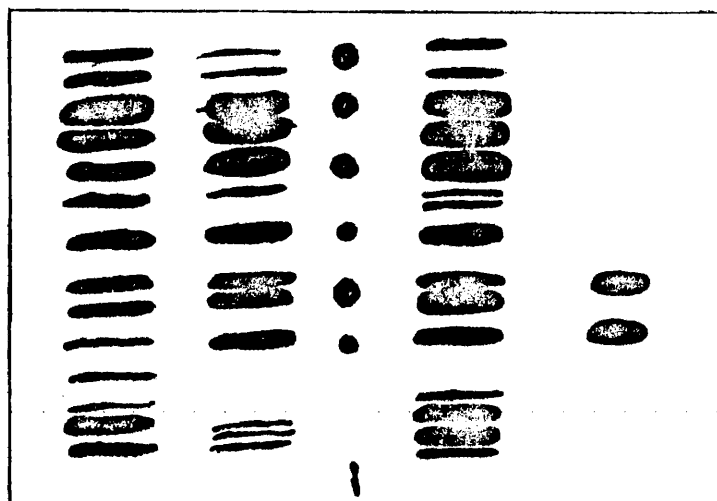
HEXA

HEPTA

URC



Figura 28



PROTO

COPRO

ISOCOPRO

PENTA

HEXA

HEPTA

URC

SUBURCS

## VI. CONCLUSIONES

## 9. CONCLUSIONES

1) Se analizó la excreción cuanti y cualitativa de porfirinas en un grupo control formado por 19 ratas. En orina la fracción Coproporfirina es netamente mayoritaria y por Cromatografía en capa fina (TLC) se comprueba la predominante presencia de esta porfirina tetracarboxílica.

En las heces la fracción Protoporfirina o la porfirina - auténticamente Dicarboxílica es la mayoritaria aunque en bilis la fracción Coproporfirina (tetracarboxílica) supera a la Protoporfirina. Estos datos confirman el en parte origen - exógeno de la Protoporfirina.

2) La administración a ratas de Hexaclorobenceno (HCB) - bien mezclado en la dieta o bien vehiculado en suspensión acuosa e introducido mediante sonda gástrica se mostró capaz de - originar la tan deseada Porfiria experimental. Sin embargo el método idóneo de intoxicación se basa en la administración de bajas dosis del fungicida vehiculado en aceite de oliva e introducido por sonda gástrica cinco días por semana.

3) La administración previa de hierro-dextrano no modificó el metabolismo porfirínico. Su empleo se basa en el intento de reproducir la sobrecarga férrica tan comunmente observada en la PCT humana.

4) En los animales intoxicados comprobamos la existencia de una hepatomegalia que tiene su correlato histopatológico - en la hipertrofia e hiperplasia de los hepatocitos.

5) Al término de la intoxicación los animales evidenciaron la característica situación porfírica:

En riñón, bazo, pulmón y fundamentalmente hígado observamos un masivo acúmulo de las porfirinas más policarboxílicas.

En bilis y en heces se detectó la patognomónica presencia de Isocoproporfirina.

6) La situación porfírica quedó plenamente establecida al cabo de seis semanas de intoxicación. No obstante algunas anormalidades en la excreción porfirínica pudieron observarse tras dos o tres semanas de la administración del Hexaclobenceno.

7) Tras comparar el metabolismo porfirínico observado en estos animales con el de 30 pacientes afectados de PCT resaltan en las ratas las siguientes peculiaridades:

- Menor eliminación porcentual de Heptacarboxil porfirina urinaria y de porfirinas tetracarboxílicas fecales.

- Mayor excreción porcentual fecal de las porfirinas -- más policarboxílicas.

- Tardío pero masivo incremento en la eliminación urinaria de precursores.

VII. BIBLIOGRAFIA



10. BIBLIOGRAFIA

1. Bach, P.H.; Taljaard, J.J.F.; Joubert, S. M.; Shanley, B.C.: The effect of iron overload on the development of HCB porphyria. S. Afr. J. Lab. Clin. Med. 17:75-76 - -- (1.971)
2. Bleigerg, J.; Wallen, M.; Brodtkin, R.; Applebaum, I. L. Industrially acquired porphyria. Arch. Derm. (Chic.) -- 89:793-797 (1.964)
3. Blekkenhorst, G.H.; Pimstone, N.R.; Wevver, B.L.; Eales L.: Hepatic haem metabolism in porphyria cutanea tarda: enzymatic studies and their relation to liver ultras- - tructure. Ann. Clin. Res. 8 suppl. 17:108-121 (1.976)
4. Blekkenhorst, G.H.; Eales, L.; Pimstone, N.R.: The natu re of hepatic cytochrome P-450 induced in hexachloroben zene fed rats. Clin. Sci. Mol. Med. 55:461-469 (1.978)
5. Blekkenhorst, G.H.; Day, R.S.; Eales, L.: The effect of bleeding and iron administration on the development of hexachlorobenzene induced rat porphyria. Int. J. Biochem. en prensa.
6. Burham, B.F.: The chemistry of the porphyrins. Seminars in Hematology 5:296-321 (1.968)
7. Burnett, J.W.; Pathak, M.A.: Effect of light upon por- - phyrin metabolism of rats. Arch. Dermatol. 89:257 (1.964)

8. Cam, C.; Nigogosyan, G.: Cases of skin porphyria related to hexachlorobenzene intoxication. *Saglik Dergisi* - 32:215-216 (1.958)
9. Cam, C.; Nigogosyan, G.: *Dirim. Istanbul.* 34:11 (1.959)
10. Cam, C.; Nigogosyan, G.: Acquired toxic Porphyria Cutanea Tarda due to HCB. *J A M A* 183:88 (1.963)
11. Campbell, J.A.H.: Pathological aspects of hexachlorobenzene feeding in rats. *A. Af. J. Lab. Clin. Med.* 9: 203-206 (1.963)
12. Cetingil, A.I.; Ozen, M. A.: *Blood* 16: 1002 (1.960)
13. Chu, T.C.; Chu, E.J.H.: Porphyrin patterns in different types of porphyria. *Clin. Chem.* 13:371-387 (1.967)
14. Davis, J.R.; Andelman, S.L.: Urinary delta-aminolevulinic acid levels in lead poisoning. I. A modified method for the rapid determination of urinary delta-aminolevulinic acid using disposable exchange chromatographic columns. *Arch. Environm. Hlth.* 15:53 (1.967)
15. Day, R.S.; Blekkenhorst, G.H.; Eales, L.: Drug induced acute porphyric episodes in rats. *Int. J. Biochem.* en prensa.
16. Day, R.S.; Eales, L. Porphyrins in chronic renal failure. *Nephron.* en prensa.
17. De Matteis, F.; Prier, B.E.; Rimington, C.: Nervous and biochemical disturbances following HCB intoxication *Nature* 191: 363-366 (1.961)

18. De Matteis, F.; Rimington, C.: Brit. J. Dermatol. 75: 91 (1.963)
19. De Matteis, F.: The effect of drugs on delta-aminolaevulinate synthetase and other enzymes in the pathway of -- liver haem biosynthesis in Parke DV (ed) Enzyme induction London. Plenum (1.975)
20. De Matteis, F.; Gibbs, A.H.: Stimulation of the pathway of porphyrin synthesis in the liver of rats and mice by griseofulvin 3,5- dietoxycarbonil- 1,4- dihydrocollidine and related drugs. Evidence for two basically different mechanisms. Biochem. J. 146: 285-287 (1.975)
21. Doss, M.: Analytical and preparative thin layer chromatography of porphyrin methyl esters. Z. Klin. Chem. u. - Klin. Biochem. 8:197-207 (1.970)
- 22.- Doss, M.; Schermuly, E.; Koss, G.: Hexachlorobenzene -- porphyria in rats as a model for human chronic hepatic porphyrias. Ann. Clin. Res. 8 sup. 17:171-181 (1.976)
23. Edmonson, P.; Stephenson, B.; Sarkar, D.; Freyholtz, H.: Direct spectrofluorophotometric determination of porphyrin in diluted urine. Ann. Clin. Res. 8 suppl. 17:156-161 (1.976)
24. Elder, G.H.: Separation of porphyrin methyl esters by -- two dimensional thin layer chromatography. J. Chromato. 59:234-236 (1.971)

25. Elder, G.H.; Evans, J.O.; Matlin, S.A.: Freiburg 424-431 (1.975)
26. Elder, G.H.: Identification of a group of tetracarboxylate porphyrins, containing one acetate and three propionate -substituents in faeces from patients with symptomatic cutaneous hepatic porphyria and from rats with - - porphyria due to HCB. Biochem J. 126:877 (1.972)
27. Elder, G.H.: The porphyrin excretion pattern of symptomatic cutaneous hepatic porphyria. M. D. Thesis. University of Cambridge 1.973
28. Elder, G.H.: The metabolism of porphyrins of the Isocoproporphyrin series. Enzyme 17:61 (1.974)
29. Elder, G.H.: Differentiation of porphyria cutanea tarda symptomatica from others types of porphyria by measurement of isocoproporphyrin in faeces. J. Clin. Path. 23; 601-607 (1.975)
30. Elder, G.H.; Evans, J.O.; Matlin, S.A.: The effect of -- the porphyrinogenic compound, HCB, on the activity of -- hepatic uroporphyrinogen decarboxylase in the rat. Clin. Sci. Mol. Med. 51:71 (1.976)
31. Elder, G.H.; Evans, J.O.; Matlin, S.A.: The porphyrinogenic action of polybhalorinated hydrocarbons. Porphyrins in -- human diseases. Dess, M. (ed) pp. 424-431 Basel-Barger - (1.976)

32. Elder, G.H.: Porphyrin metabolism in porphyria cutanea tarda. Semin. Hematol. 14:227-242 (1.977)
33. Elder, G.H.: Porphyria caused by hexachlorobenzene and other polyhalogenated aromatic hydrocarbons. Hand book of experimental pharmacology Vol. 44: Heme and Hemoproteins pag. 157-200. Ed. F. de Matteis y N. Aldridge, -- Springer-Verlag, Berlin, 1.978
34. Enríquez de Salamanca, R.; Day, R.; Eales, L.: The use of thin layer chromatography to study the variation in fluorescence of porphyrin methyl esters. Comunicación personal.
35. Enríquez de Salamanca, R.; Fariña, J.; Pepiñá, C.; Catalán, T.; Merchan, A.; Arnalich, F.; Arangoncillo, P.; Mas, V.: Porfiria experimental por hexaclorobenceno: estudio de las alteraciones hepáticas estructurales y ultraestructurales. Arch. Fac. Med. Madrid 34:173-185 -- (1.978)
36. Enríquez de Salamanca, R.; Arnalich, F.: Conceptos actuales sobre la patogenia de la porfiria cutánea tarda. Rev. Clin. Esp. 152:447-455 (1.979)
37. Enríquez de Salamanca, R.; Molina, C.; Catalán, T.; Mas V.; Vidal, I.; Chinarro, S.: Oxo y desetil-isocoproporfirinas en la porfiria experimental inducida en ratas -- por hexaclorobenceno. Gast. Hep. en prensa.

38. Falk, J.E.; Dresel, E.I.B.; Rimington, C.: Porphobilinogen as a porphyrin precursor, and interconversion of - - porphyrins in a tissue system. *Nature (London)* 172:292 - (1.953)
39. Falk, J.E.: Porphyrins and metalloporphyrins. Ed. rev. - Ed. Smith K.M. Elsevier Scientific Publ. Co. Amsterdam - 1.975
40. Fischer, H.; Duesberg, R.: *Arch. Exptl. Pathol. Pharmacol* 166:95 (1.932)
41. Gajdos, M.A.; Gajdos-Török, M.: The therapeutic effect - of Adenosine-5- monophosphoric acid in Porphyria. - -- *Lancet* 2:175 (1.961)
42. Gajdos, M.A.; Gajdos-Török, M.: Porphyrie experimentales du rat blanc provoquée par l'hexachlorobenzène. Action - thérapeutique de l'acide adenosine-5- monophosphatique. *Pres. Med.* 69:738 (1.961)
43. Gajdos, A.; Gajdos-Török, M.: *Porphyries et Porphyries*. Ed. Masson. Paris, pp.209-210 (1.969)
44. Goerz, G.; Vizethum, W.; Bolsen, K.; Krieg, Th.; Lissner R.: Hexachlorobenzol- bedingte porphyrie der ratte ein- - fluss von HCB- metaboliten auf die haembiosynthese. *Arch. Dermatol. Res.* 263:189-196 (1.973)
45. Goldberg, A.: *Biochem. Soc. Symp.* 23:35 (1.963)

46. Golstain, J.A.; Hickman, P.; Bergman, H.; Jos, J.G.: --  
Hepatic porphyria induced by 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo  
p- dioxin in the mouse. Res. Commun. Chem. Pathol. - --  
Pharmacol. 6:919-928 (1.973)
47. Goldstain, J.A.; Hickman, P.; Jue D.L.: Experimental --  
hepatic porphyria induced by polychlorinated biphenyls.  
Toxicol. appl. Pharmacol. 27:437-448 (1.974)
48. Granick, S.; Sassa, S.: Delta-aminolevulinic acid syn--  
thetase and the control of heme and chlorophyll synthe--  
sis. Metabol. Pathways 5:77-141 (1.971)
49. Granick, S.; Urata, G.: J. Biol. Chem. 238:781 (1.953)
50. Granick, S.: The induction in vitro of the synthesis of  
delta-ALA synthetase in chemical porphyria: a response  
to certain drugs, sex hormones and foreign chemicals. -  
J. Biol. Chem. 241:1359 (1.966)
51. Granick, D.L. ; Iverson, F.; Hatina, G.V.; Villeneuve, D.C  
Effects of hexachlorobenzene on liver porphyrin levels  
and microsomal enzymes in the rat. Environ. Physiol. - -  
Biochem. 4:159-165 (1.974)
52. Haeger-Aromsen, G.: Studies on urinary excretion of del-  
ta-aminolevulinic acid and other haem precursors in lead  
workers and lead-intoxicated rabbits. Scand. J. Clin. --  
Lab. Invest. 12 suppl. 47 (1.960)

53. Haeger Aromsen, B.; Abdulla, M.: Evaluation of two methods for measuring delta-aminolevulinic acid in urine. II. -- Scand. J. Clin. Lab. Invest. 29:205 (1.972)
54. Holti, C.; Rimington, C.; Tate, B.C.; Thomas, G.: An - - investigation of porphyria cutanea tarda. Quart. J. Med. N. S. 27:1 (1.958)
55. Ippen, H.; Aust, D.; Goerz, G.: Arch. Derm. Forsch. 245: 305-317 (1.972)
56. Ivanov, E.; Todorov, D.; Adjarov, D.; Dimitrov, P.: - - Porphyrin metabolism in renal diseases. III. Mechanism of renal excretion of porphyrins. Nephron 17: 396-401 - (1.976)
57. Jackson, A.H.; Sancovich, H.A.; Ferramola, A.M.; Evans, N.; Games, D.E.; Matlin, S.R.; Elder, G.H.; Smith, S.G. Macrocyclic intermediates in the biosynthesis of porphyrins. Phil. Trans. R. Soc. B. 273:191-206 (1.976)
58. Jirásek, L.; Kalensky, J.; Fubec, K.: Acne chlorina, porphyria cutanea tarda. Pri vyrobe herbicid. Col. Derm. - 48:306-317 (1.973)
59. Joubert, S.M.; Taljaard, J.J.F.; Shanley, B.C.: Enzyme 16:305-313 (1.973)
60. Kalivas, J.: Urinary clues to the pathogenesis of porphyria cutanea tarda. Clin. Biochem. 2:417-421 (1.969)



61. Kanstemi, I.; Giner, S.; Kayaalp, O.: Investigation with hexachlorobenzene and organic mercury compounds. Turk. - Hijyen Tec. Biol. Derm. 20:19-30 (1.960)
62. Koss, G.: Studies on the pharmacokinetics of hexachlorobenzene in rats. In porphyrins in human diseases. Doss - M. (ed) pp 414-417 Basel Karger (1.976)
63. Kozs6, F.; Sikl6si, Cs. ; Simon, N.: Liposome model experiment for the study of assumed membrane damage in - - porphyria cutanea tarda. Biochim. Biophys. Acta 363:182-189 (1.974)
64. Kozs6, F.; Sikl6si, Cs.; Simon, N.: Hexachlorobenzene -- porphyria and hexachlorobenzene catabolism in rats. Biochem. Biophys. Res. Comm. 80:781-788 (1.978)
65. Kuiper-Goodman, T.; Grant, D.; Korsrod, G.; Moodie, C.A.; Munro, I.C.: Toxic effects of hexachlorobenzene in the -- rat: correlations of electron microscopy with other toxic parameters. Toxicol. Appl. Pharmacol. 29:101 Abst. 67 - - (1.974)
66. Kuiper-Goodman, T.; Grant, D.; Moodie, C.A.; Korsrod, G. O.; Munro, I.C.: Subacute toxicity of hexachlorobenzene in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 40:529-549 (1.977)
67. Kushner, J.P.; Barbuto, A.J.: Decreased activity of - - hepatic uroporphyrinogen decarboxylase in porphyria - - cutanea tarda. Clin. Res. 22:178 (1.974)

68. Kushner, J.P.; Barbuto, A.J.: An inherited defect in - porphyria cutanea tarda: decreased uroporphyrinogen decarboxylase. Clin. Res. 23:403 (1.975)
69. Kushner, J.P.; Steinmuller, D.P.; Lee, G.R.: The role - of iron in the pathogenesis of porphyria cutanea tarda: an in vitro model. II. Inhibition of uroporphyrinogen - decarboxylase. J. Clin. Invest. 56:661-667 (1.975)
70. Lissner, R.; Goerz, G. Eichenauer, H.G.; Ippen, H.: HCB induced porphyria in rats- relationship between porphyrin excretion and induction of drug metabolizing liver enzymes. Biochem. Pharmacol. 24: 1729-1731 (1.975)
71. Lockhead, A.C.; Dagg, J.H.; Goldberg, A.: Brit. J. Derm. 79:96 (1.967)
72. Louw, M.; Neethling, A.C.; Percy, V.A.; Carstens, M.; - Shanley, B.C.: Effects of hexachlorobenzene feeding and iron overload on enzymes of haem biosynthesis and cytochrome P-450 in rat liver. Clin. Sci. and Mol. Med. 53: 111-115 (1.977)
73. Lui, H.; Sampson, R.; Sweeney, G.D.: Hexachlorobenzene porphyria. Porphyrins in human diseases pp 405-413 Ed. M. Doss, Karger Basel 1.976

74. Mauzerall, R.; Granick, S.: The occurrence and determination of delta-aminolevulinic acid and porphobilinogen in urine. J. Biol. Chem. 219:435 (1.956)
75. Mc Kay, R.; Druyan, R.; Getz, G.S.; Rabinowitz, M.: - - Intramitochondrial localization of delta-aminolaevulinic synthetase and ferrochelatase in rat liver. Biochem. J. 114:455 (1.969)
76. Medline, A.; Bain, E.; Menon, A.I.; Haberman, H.F.: - - Hexachlorobenzene and rat liver. Arch. Path. 96:61-65 - (1.973)
77. Meyer, V.A.; Schmid, R.: The porphyrias in Stambury J.B. Wyngaarden J.B., Fredrickson, D.S.: The metabolic basis of inherited disease. New York Mc Graw-Hill, 1.977
78. Ockner, R.K.; Schmid, R.: Acquired porphyria in man and rat due to hexachlorobenzene intoxication. Nature 189: 499 (1.961)
79. Onisawa, J.; Labbe, R.F.: Effects of diethyl 1,4-dihydro 2,4,6- trimethyl pyridine-3,5-dicarboxylate on the metabolism of porphyrins and iron. J. Biol. Chem. 238:724 - (1.963)
80. Parke, D.V.; Williams, R.T.: Studies in detoxication  
81. The metabolism of halogenobenzenes: Penta and hexachlorobenzenes. Further observations on 1,3,5-Trichlorobenzene. Biochem. J. 74:5-9 (1.960)

81. Pearson, R.W.; Malkinson, F.D.: Some observations on hexachlorobenzene induced experimental porphyria. J. Invest. Dermatol. 44:420 (1.965)
82. Peters, H.A.: Hexachlorobenzene poisoning in Turkey. Fed. Proc. 35:2400-2403 (1.976)
83. Prato, V.; Mazza, U.; Ramello, A.: Lancet 2: 1276 (1.964)
84. Rajamanickam, C.; Ammtavalli, J.; Rao, M.R.S.; Padmanaban G.: Effect of hexachlorobenzene on heme synthesis. Biochem J. 129:381-387 (1.972)
85. Rimington, C.; Hemmings, A.W.: Lancet, 1:770 (1.938)
86. Rimington, C.: Biochem. J. Tokyo 33:960 (1.939)
87. Rimington, C.: Quantitative determination of porphobilinogen and porphyrins in urine and faeces. Assoc. Clin. - Pathologist. Broadsheet 36 N.S. Set. 1.961
88. Rimington, C.; Ziegler, C.: Experimental porphyria in rats induced by chlorinated benzenes. Biochem. Pharmacol 12:1387-1397 (1.963)
89. Rios de Molina, M.C.; Wainstok de Calmanovici, R.; San - Martin de Viale, L.C.: Investigations on the presence of porphyrinogen carboxylase inhibitor in the liver of rats intoxicated with hexachlorobenzene. Int. J. Biochem. en prensa.

90. San Martín de Viale, L.C.; Viale, A.A.; Nacht, S.; Grinstein, M.: Experimental porphyria induced in rats by hexachlorobenzene. Clin. Chim. Acta 28:13-23 (1.970)
91. San Martín de Viale, L.C.; Tomio, M.; Ferramola, A.M.; - Sancovich, H.A.; Tigier, H.A.: Nat. Meet. Arg. Soc. Biochem. Invest. Abstr. 8 (1.972)
92. San Martín de Viale, L.C.; cols.: Freiburg 445-452 - - - (1.975)
93. San Martín de Viale, L.C.; Russo, M.C.; Ríos de Molina, M.C.; Grinstein, M.: Experimental porphyria induced in - rats by hexachlorobenzene. II. The effect of oestradiol-17 b. Abs. of 1 st Int. Porph. Meet. Freiburg (1.976)
94. San Martín de Viale, L.C.; Ríos de Molina, M.C.; Wainstok de Calmanovici, R.: Experimental porphyria induced in -- rats by hexachlorobenzene in studies on the stepwise decarboxylation of uroporphyrinogen and phyria porphyrinogen in vivo and in vitro in several tissues, in Doss M (ed): Porphyrins in human diseases. Basel Karger (1,976)
95. San Martín de Viale, L.C.; Ríos de Molina, M.C.; Wainstok de Calmanovici, R.; Tomio, J.M.: Porphyrins and porphyrinogen carboxy-lyase in hexachlorobenzene induced porphyria. Biochem. J. 168: 393-400 (1.977)
96. Schmid, R.; Schwartz, S.: Experimental porphyria. III. H Hepatic type produced by Sedormid. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81:685 (1.952)

97. Schmid, R.; Figen, J.F.; Schwartz, S.: J. Biol. Chem. 217:263 (1.955)
98. Schmid, R.: Cutaneous porphyria in Turkey. New Engl. - J. Med. 263:397 (1.960)
99. Schmid, R.: in Stambury, J.B.; Wyngaarden, J.B. and -- Fredrickson D.S. eds. (1.960)
100. Schwartz, S.; Johnson, J.A.; Stephenson, B.D.; Anderson A.S.; Edmonson, R.; Fusaro, R.M.: Erythropoietic defect in porphyria: a study of factors involved in labelling of porphyrins and bile pigments from ALA-<sup>3</sup>H and glycine <sup>14</sup>C. J. Lab. Clin. Med. 73:411-434 (1.971)
101. Sears, W.G.; Daracho, T.; Ealer, L.: Thin layer chromatographic behaviour of the coproporphyrin isomers in relation to porphyrin P<sub>1</sub>. Enzyme 17:69-75 (1.974)
102. Simon, N.; Dobozy, A.; Berkó, G.: Porphyrinstoffwechsel und klinisch-laboratoriumsmäßige untersuchungen in modellversuchen und an patienten mit porphyria cutanea tarda. Arch. Klin. Exp. Derm. 238:38 (1.970)
103. Simon, N.; Siciósi, Cs.; Lőszó, F.: The role of gangliosides in cellular membrane structures in the development of porphyria cutanea tarda. Porphy. in human Dis. 1<sup>st</sup> Int Porphy. Meet. Freiburg. Br. May 1-4 (1.975)

104. Simon, N.; Siklósi, Cs.; Kószó, F.: Influence of environmental factors on porphyrin metabolism. in: Diagnosis - and Therapy of porphyrias and lead intoxication pag 145-150 Ed. M. Doss, Springer-Verlag, Berlin (1.978)
105. Smith, A.G.; De Matteis, F.: The inhibition of uroporphyrinogen decarboxylase in the liver of females Agus rats poisoned with hexachlorobenzene. Int. J. Biochem. en -- prensa.
106. Solomon, H.M.; Figge, F.H.J.: Proc. Soc. Exptl. Biol. - Med. 100:583 (1.959)
107. Stokvis, B.J.: Ned. Tijdschr. Geneesk. 2R, 2d, 25: 409 (1.889)
108. Stokvis, B.J.: Z. Klin. Med. 28:1 (1.895)
109. Stonard, M.D.: Experimental hepatic porphyria induced - by HCB as a model for human symptomatic porphyria. Br. J. Haematol. 27:617-625 (1.974)
110. Stonard, M.D.: Disturbances of porphyrin metabolism, in Slater TF (ed): Biochemical mechanisms of liver injury London Academic 1.977
111. Strik, J.J.T.W.A.: Species differences in experimental porphyria caused by polyhalogenated aromatic compounds Enzyme 16:224-230 (1.973)

112. Strik, J.J.T.W.A.; Koemen, J.H.: Porphyrinogenic action of hexachlorobenzene and octachlorostyrene. Porphyrins in human diseases. Doss, M. (ed) pp 413-423 Basel Karger 1.976
113. Strik, J.J.T.W.A.; Doss, M.; Robertson, L.W.; Tiepermann R.; Harmsen, E.G.M.: Secondary coproporphyrinuria and -- chronic hepatic porphyria type A in farm families in Michigan exposed to polybrominated biphenyls P.B.B. en presa (.977)
114. Strik, J.J.T.W.A.: Porphyrinogenic action of polyhaloge-- nated aromatic compounds, with special reference to porphyria and environmental impact. Diagnosis and Therapy - of porphyrias and lead intoxication pag 151-164 Ed. M. - Doss, Springer-Verlag Berlin 1.978
115. Strik, J.J.T.W.A.; Nit, J.M.F.: Health aspect of rabbits in a low TCDD contaminated area. Int. J. Biochem. en presa
116. Sweeney, G.D.: The porphyrias in South Africa. A study - of the excreted porphyrins. Ph. D. Thesis. Cape Town - - (1.963)
117. Sweeney, G.D.; Janigan, D.; Mayman, D.; Lai, H.: Experimental porphyria. S.A. Med. J. 25:68 (1.971)
118. Sweeney, G.D.; Janigan, D.; Mayman, D.; Lai, H.: The experimental porphyrias a group of distinctive metabolic - lesions. S.A. J. Lab. Clin. Med. 17:69-72 (1.971)



119. Sweeney, G.D.; Jones, K.G.; Cole, F.M.; Basford, D.; --  
Kretynski, F.: Iron deficiency prevents liver toxicity  
of 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin. Science 204: -  
332-335 (1.979)
120. Taljaard, J.J.F.; Shanley, B.C.; Joubert, S.M.: Decreas  
ed uroporphyrinogen decarboxylase activity in "experi--  
mental symptomatic porphyria". Life Sci. 10-887 (1.971)
121. Taljaard, J.J.F.; Shanley, B.C.; Deppe, W.H.; Joubert, -  
S.M.: Porphyrin metabolism in experimental hepatic side  
rosis in the rat. II. Combined effect of iron overload  
and HCB. Br. J. Haematol. 23:513 (1.972)
122. Taljaard, J.J.F.; Shanley, B.C.; Deppe, W.M.; Joubert,  
S.M.: Porphyrin metabolism in experimental hepatic side  
rosis in the rat. III. Effect of iron overload and hexa  
chlorobenzene on liver heme biosynthesis. Brit. J. Haem.  
23:587-593 (1.972)
123. Tephly, T.R.; Gibbs, A.H.; De Matteis, F.: Studies on -  
the mechanism of experimental porphyria produced by - -  
3,5-diethoxycarbonyl-1,4-dihydrocollidine. Int. J. Bio  
chem. En prensa
124. Tschudy, D.P.; Bonkowsky, H.L.: Experimental porphyria.  
Fed. Proc. 31 (1):147-159 (1.972)
125. Umeda, G.: PCB poisoning in Japan. Ambio 1:132-134 - --  
(1972)

126. Villeneuve, D.C.: The effect of food restriction on the redistribution of hexachlorobenzene in the rat. *Toxicol. appl. Pharmacol.* 31:313-319 (1975)
127. Vizethum, W.: Mechanisms of HCB porphyria.- Abstracts - of the thema-colloquium toxicologie on mechanisms of -- chemical porphyria. Wageningen, Holanda. Mayo 1980
128. Vos, J.G.; Beems, R.B.: Dermal toxicity studies of technical polychlorinated biphenyls and fractions thereof in rabbits. *Toxicol. appl. pharmacol.* 19:617-633 (1971)
129. Wainstok de Calmanovici, R.; San Martin de Vidale, L.G.: Effect of chlorophenols on porphyrin metabolism in rats and chick embryo. *Int. J. Biochem.* en prensa
130. Weston-Hurst, L.; Paget, S.A.: *Brit. J. Dermatol.* 75:105 (1963)
131. Whiting, M.J.; Granick, S.: d-aminolevulinic acid synthase from chick embryo liver mitochondria. II. Immunoechemical correlation between synthesis and activity in -- induction and repression. *J. Biol. Chem.* 251:1347-1353 (1976)
132. With, T.K.: Esterification of porphyrins and hydrolysis of porphyrins esters. *S. Afr. J. Lab. Clin. Med.* 17:218-220 (1971)
133. With, T.K.: Clinical use of porphyrin ester chromatography of urine and faeces. *Dan. Med. Bull.* 22 (2):74-80 (1975)

134. Robertson, L.W.; Chinoweth, D.P.: Another halogenated hydrocarbon. *Environment* 17:25-27 (1.975)
135. Schwartz, S.: Porphyrins and porphyrin precursors in human and experimental porphyria. *Fed. Proc.* 14:717 - (1.955)
136. Blekkenhorst, G.H.; Eales, L.; Pimstone, N.R.: The nature of hepatic cytochrome p-450 induced in hexachloro benzene fed rats. *Clin. Sci. Mol. Med.* 55:461-469 - - (1.978)
137. Day, R.S.; Enríquez de Salamanca, R.; Eales, L.: Quantitation of red cell porphyrin by fluorescence scanning after thin layer chromatography. *Clin. Chim. Acta* 89:25-33 (1.978)
138. French, J.M.; Thonger, E.: Ether-soluble porphyrins in bile, meconium and urine: a new appraisal by micro-scale counter-current analysis. *Clin. Sci.* 31:337-351 (1.966)
139. Enríquez de Salamanca, R.; Arnalich, F.; Romero, F.: Fisiopatología de la excreción de las porfirinas . -- *Rev. Clin. Esp.* 155:7-11 (1.979)

PORFIRIA EXPERIMENTAL POR VÍA GÁSTRICA EN RATORESUMEN

Se analizó la excreción cuantitativa y cualitativa de porfirinas en un grupo control formado por 10 ratas. En este grupo la fracción Coproporfirina es notablemente mayoritaria y por cromatografía en capa fina (TLC) se comprobaba la predominante presencia de esta porfirina tetracarboxílica.

En los heces la fracción protoporfirina o la porfirina - auténticamente Dicarboxílica o la mayoritaria suena en bilis la fracción Coproporfirina (tetracarboxílica) suena a la Protoporfirina. Estos datos confirman el origen común del grupo de la Protoporfirina.

La administración a ratas de Hexoclorado cúbico (HC) bien mezclada en la dieta o bien vehiculada en suspensión acuosa e introducida mediante sonda gástrica se controló como se describirá la tan deseada Porfiria Experimental. Sin embargo el método idóneo de intoxicación se basa en la administración de heces de ratas del fumigante vehiculado en aceite de oliva e introducido por sonda gástrica cinco días por semana.

La administración previa de hierro-dextrano no modificó el metabolismo porfirínico. Su empleo se basa en el intento de reducir la sobrecarga férrica tan comúnmente observada en la PHE humana.

En los animales intoxicados se comprobó la existencia de una hepatomegalia que tiene su correlato histopatológico en la hipertrofia e hiperplasia de los hepatocitos.

Al término de la intoxicación los animales evidenciaron la característica situación porfírica:

En riñón, bazo, pulmón y fundamentalmente hígado observamos un masivo acúmulo de las porfirinas más policarboxílicas. En bilis y en heces se detectó la patognomónica presencia de Isoconoporfirina.

La situación porfírica quedó plenamente establecida al cabo de seis semanas de intoxicación. No obstante algunas anomalías en la excreción porfirínica pudieron observarse tras dos o tres emanos de la administración del Hexaclorobenceno.

Tras comparar el metabolismo porfirínico observado en -- estos animales con el de 30 pacientes afectados de PCT resaltan en las ratas las siguientes peculiaridades:

Menor eliminación porcentual de Metacarboxil porfirina - urinaria y de porfirinas tetracarboxílicas fecales.

Mayor excreción porcentual fecal de las porfirinas más - policarboxílicas.

Tardío pero masivo incremento en la eliminación urinaria de los precursores.

